



TITLE:

VII. 共同利用研究, 2.研究成果, (2)一般個人研究

AUTHOR(S):

CITATION:

VII. 共同利用研究, 2.研究成果, (2)一般個人研究. 霊長類研究所年報 2017, 46: 94-113

ISSUE DATE:

2017-02-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/226125>

RIGHT:

This study was aimed to verify markers that can be applied to the genotyping of microsatellite DNA in the fecal samples collected from a Taiwanese macaque population located in southern Taiwan. A total of 16 microsatellite markers that have been tested on the Taiwanese macaque population in Oshima were chosen for the study. Among the 16 markers, 10 markers resulted in detectable polymorphism on the loci. The fecal samples used in the microsatellite genotyping were first screened by the *c-myc* test for the DNA quality. The HVR I of mtDNA was also sequenced and the result showed that the haplotype (740 bp) of two neighboring groups were different from each other by 31 bp of substitutions in this provisioned region. The 10 microsatellite markers will be applied to the paternity analysis in the Taiwanese macaque to investigate their reproductive strategies. This non-invasive method to study genetic structures also contributes to the conservation of the Taiwanese macaques in Taiwan by revealing the human impact on translocating macaque groups in the past.

Keywords: microsatellite marker, maternal inheritance, provisioning, translocation, *Macaca cyclopis*.

A-37 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal

Mukesh Chalise (Central Department of Zoology, Tribhuvan University, Nepal)

所内対応者：川本芳

The trade of DNA samples becomes difficult due to recent ratification and enforcement of international regulation Nagoya Protocol. This trend changed our collaboration in cooperative study on evolution and conservation of non-human primates in Nepal. In this fiscal year program, we start to establish a laboratory in Kathmandu where we can prepare DNA samples from fecal specimens and can perform DNA amplification by standard PCR procedure in order to continue phylogeographical study on macaques and langurs in Nepal. We opened the laboratory in December 2015 and conducted a feasibility study of mtDNA typing for non-human primates for the first time in the country. Firstly, we extracted DNA samples from fecal specimens preserved in lysis buffer based on the protocol developed in the last year program. Both Assamese macaques and grey langurs were examined for partial sequencing of control region, 16S ribosomal RNA and cytochrome b in the mitochondrial DNA genome. Of 26 specimens, consisting of 20 macaques and 6 langurs from 8 localities, 19 were successfully amplified by PCR. We also got good results in sexing with amelogenin primers for 19 samples. Obtained PCR products were sequenced in Japan to confirm the applicability of newly obtained PCR products for sequencing analysis. Our preliminary examination of cytochrome b fragments yielded fine results for four out of six samples of grey langurs. Obtained Nepalese sequences were compared with deposited DNA sequences in database. Nepalese samples formed a single cluster with high bootstrap value and a reported haplotype (N2) from Ramnagar (Karanth et al. 2010) was placed aside of the Nepalese cluster.

(2) 一般個人研究

B-1 Developing a model of cold- and heat-stressed primate thermoregulation from Japanese macaques (*Macaca fuscata*)

Cynthia Thompson (Grand Valley State University), Chris Vinyard (Northeast Ohio Medical University), Susan Williams (Ohio University), Sylvain Perez (Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse)

所内対応者：半谷五郎

This project aims to assess how Japanese macaques (*Macaca fuscata*) utilize behavioral and physiological mechanisms during seasonal thermoregulation. During 2015, we conducted our second research season (summer; winter data collection occurred in 2014) at the Kyoto University Primate Research Institute from July 11-31. During this time we successfully collected data on thermoregulatory variables for five adult animals (n=2 males, n=3 females). We gathered a total of 1,048 observation hours. These behavioral data are currently being used to calculate the effects of temperature, solar radiation, humidity, and wind speed on the time spent moving, body position, and choice of sunny vs. shaded location. During this past data collection season we also collected 94 fecal samples. These were lyophilized, extracted, and assayed via ELISA to determine levels of the thermoregulatory thyroid hormone fT3. We found significantly lower levels of fT3 in the summer compared to the winter (ANCOVA: $F = 41.5$, $p < 0.001$), with summer samples having fT3 levels, on average, 2.87pg/ml lower than winter samples. Additionally, season explained 45.9% of the variance in fT3 levels; for comparison sex explained only 2.2% of the variation in fT3. These results suggest that Japanese macaques significantly boost thyroid hormone levels during the winter, likely to increase basal metabolic rate and generate heat. Since fT3 levels are linked to energy expenditure, lower fT3 levels in the summer likely reflect a strategy to lower not only heat generation, but also to conserve energy. Our results indicate that these animals utilize thyroid hormones, a relatively expensive and longer-term physiological pathway, as a mechanism of seasonal thermoregulation.

B-2 1次視覚野をバイパスする頭頂連合野への視覚入力への解明

中村浩幸 (岐阜大・院・高次神経形態学)

所内対応者：脇田真清

霊長類の高次視覚野へ、1次視覚野を経由しない、短潜時の視覚入力を、形態学的に解明する。本年度は、頭頂連合野へ直接の視覚入力を送る V3A 野への外側膝状体からの投射を研究した。

アカゲザル 1 頭の V3A 野へトレーサーを注入し、外側膝状体層間細胞の逆行性標識を観察した。トレーサー注入に先立って、1mm 間隔のスライスで厚 1mm の頭部 MRI 画像を撮像した。画像を Caret 5 (Van Essen, <http://brainmap.wustl.edu>, 1995)に取り込み、前額断画像の脳表の形状をとレースして、脳表の 3 次元画像を作成し、トレーサー注入用の微小ピペットを垂直に V3A 野に刺入する際の刺入部位を確認した。ファーストブルー (2%)、ディアミディノイエロー (4%)、ビオチン化デキストランアミン (20%) をそれぞれ異なる微小ピペットに充填し、左右の V3A 野を目標に 3 カ所ずつ微量注入した。左の V3A 野には、ファーストブルーとディアミディノイエローが注入されており、白質や LOP 野へは広がっていなかった。右では、ファーストブルーとディアミディノイエローが、V3A 野と LOP 野に注入されていた。逆行性に標識された外側膝状体層間細胞の分布は現在検討中である。

B-3 サル類における聴覚事象関連電位の記録

伊藤浩介 (新潟大・脳研)

所内対応者：中村克樹

明らかな適応的意義の見当たらない音楽は、何故どのように進化したのだろうか。本研究は、従来の行動指標の代わり

に事象関連電位(ERP)や誘発電位(EP)を用いて、音楽の系統発生を探る試みである。昨年度までの研究で、マカクザルを対象に、無麻酔かつ無侵襲で頭皮上から ERP/EP を記録するための方法論を確立した(Itoh et al., Hearing Research, 2015)。これにより、頭皮上の最大 19 チャンネルから、純音刺激に対する聴覚 EP の後期成分を記録し、mP1, mN1, mP2, mN2, mSP の各成分を世界で初めて同定・命名することに成功した。本年度は、これらの EP 成分が、純音刺激提示の時間特性（刺激持続時間、刺激間無音間隔）にどのように影響を受けるか検討したところ、とくに mN1 以降の成分について、ヒトとアカゲザルで顕著な種差があることが分かった。ヒトで聴覚処理の時間窓が延長していると解釈が出来る結果であり、成果をまとめている (Itoh et al., in preparation)。また並行して、マーモセットを対象とした、無麻酔かつ無侵襲の頭皮上脳波記録につき、方法論の検討を行った。

B-4 新世界ザル苦味受容体 TAS2R に対するリガンド感受性多様性の検証

河村正二, 松下裕香（東京大・新領域・先端生命） 所内対応者：今井啓雄

新世界ザル類は高度な色覚変異を示すことが報告されているが、ケミカルセンス遺伝子の進化多様性については知見が乏しく感覚進化の全体像は不明な部分が多い。そこで他の霊長類で比較的研究の進展している苦味受容体 TAS2R 遺伝子に焦点を当て、ゲノムプロジェクトの進展しているマーモセット (*Callithrix jacchus*)、リスザル (*Saimiri boliviensis*)、ヨザル (*Aotus nancymae*) の TAS2R 遺伝子配列から PCR プライマーを設計し、所属研究室現有のノドジロオマキザル (*Cebus capucinus*) とチュウベイクモザル (*Ateles geoffroyi*) の血液等由来高純度ゲノム DNA と野生群の糞由来 DNA に対して遺伝子塩基配列の決定を試みた。その結果 TAS2R3,5,10,38 の 4 遺伝子について高純度サンプルから配列を決定し、糞由来の集団サンプルについて 7~42 個体について配列決定を行った。しかし、配列決定に時間を要したため当初予定した分子進化・集団遺伝学解析及びクローン化遺伝子のリガンドアッセイに至ることはできなかった。今後解析遺伝子数・サンプル数を増やすとともに、進化・機能解析を進展させる。

B-5 霊長類の各種の組織の加齢変化

東超(奈良県医大・医・解剖学) 所内対応者：大石高生

加齢に伴う呼吸筋である肋間筋（骨格筋）のカルシウム、燐、マグネシウム、硫黄、鉄、亜鉛の蓄積の特徴を明らかにするため、サル（サルの肋間筋）の元素含量の加齢変化を調べた。用いたサルは 16 頭、年齢は流産児から 26 歳である。サルより肋間筋を乾燥重量 100mg 程度採取し、水洗後乾燥して、硝酸と過塩素酸を加えて、加熱して灰化し、高周波プラズマ発光分析装置 (ICPS-7510、島津製) で元素含量を測定し、次のような結果が得られた。

- ① サルの肋間筋の主な元素はカルシウム、燐、マグネシウム、および硫黄である。
- ② サルの肋間筋のカルシウム含量はすべて 10mg/g 以下で、さらに、加齢とともに減少傾向にあった。この結果から肋間筋は加齢とともに石灰化しにくい呼吸筋であることが分かった。
- ③ サルの肋間筋においてはカルシウム、燐とマグネシウム含量の間に非常に高い有意な正の相関が認められ、カルシウム、燐、マグネシウムが一定の比率でサルの肋間筋に蓄積されることを示している。

B-6 行動の時間配分バランスと分派行動の起こりやすさの関係

風張喜子(北海道大・北方生物圏フィールド科学センター) 所内対応者：辻大和

ニホンザルは、基本的には群れのメンバーがひとまとまりで暮らすが、季節によっては頻繁に分派する。個体間の近接・群れのまとまりは、時に採食時間を削減してまで他個体の動きを視覚的に確認することで保たれる。一方で、食物条件によっては、他個体の動きの確認に時間を割くことが難しく、分派が起こりやすくなることも考えられ、これが季節的な分派の要因となっているかもしれない。そこで、宮城県金華山島に生息する野生ニホンザルを対象として、食物条件の異なる時期に個体追跡による行動観察を行い、分派の起こる状況を検討した。その結果、移動および探索に時間がかかる食物の利用中に分派が起こりやすかったが、それらの食物の利用中に見まわしは少なくなかった。そのため、行動の時間配分上の制約が分派の要因である可能性は低い。その一方で、見まわし間隔が長い場合が稀にあり、分派はその前後に始まっていた。また、移動・探索型食物のまばらな分布の影響で視覚内の個体が少なく、群れとしての移動の方向を把握しにくい状況だと考えられた。その状況で、見まわしを行わない時間があることで、互いの動きに引きずられたメンバーがたまたま群れの移動の方向を見誤り、分派した可能性がある。

B-7 ニホンザルにおける歯の組織構造と成長

加藤彰子（愛知学院大・歯・口腔解剖）, Tanya Smith (Harvard Univ. Human Evolutionary Biology・Dental Hard Tissue Lab) 所内対応者：平崎鋭矢

本研究課題は、生息環境の異なるマカク種の歯の成長について明らかにする目的で、ニホンザルを含むマカク 6 種類の大臼歯歯冠エナメル質の厚みについて X 線 CT 画像解析により調査を行ってきた。本年度は、歯の微細構造の解析を行うために、大臼歯の薄切研磨標本を用いて、歯冠エナメル質に認められる成長線の解析を進めている。具体的には、偏光顕微鏡を用いて大臼歯の咬頭頂付近および歯頸部付近に認められる成長線を解析する。これまでに認められた所見では、ニホンザルの歯冠エナメル質に観察される成長線は、他のマカク種とは異なり特異的なパターンを示した。今後は、さらに解析を進め、各種マカクの歯の形成に関する特徴を明らかにし、食性や生息環境との関係を調査していく予定である。

B-8 マーモセットにおける養育個体のオキシトシン濃度

齋藤慈子（武蔵野大・教育） 所内対応者：中村克樹

神経ペプチドであるオキシトシンは、げっ歯類の研究から、社会的認知・行動に関わっていることが知られているが、いまだ霊長類の社会行動とオキシトシンの関係についての研究は数が少ない。本研究は、家族で群を形成し協同繁殖をおこなう、コモンマーモセットを対象に、母親だけでなく父親の、母親出産前後のオキシトシン濃度と養育行動との関連を調べることを目的とした。前年度までに、マーモセット型のオキシトシンを合成し、市販のオキシトシン測定用 EIA キットを用いて、マーモセット型のオキシトシンが測定可能であることを確認した。本年度も前年度に続き、初産個体を対象とした出産前後の採尿および、乳児回収テスト、背負い行動の観察を行うことを試みたが、出産数が少なかった上、飼育室におけるケージ・個体の移動等にもとない、十分なデータの採取を行うことができなかった。引き続きサンプル数を増やしていく予定である。

B-9 アフリカ中新世霊長類化石の形態学的研究

國松豊（龍谷大・経営） 所内対応者：平崎鋭矢

現生ヒト上科とオナガザル上科の初期進化は中新世のアフリカで起きたと考えられており、これらのグループの進化過程を解明するには、アフリカ中新世の霊長類化石の研究が欠かせない。1980 年以来、京大を中心とした日本調査隊がケニア共和国において野外発掘調査を継続して実施してきており、ケニア北部のナチョラ、サンプルヒルズ、ナカリから中新世の大型ヒト上科を始めとして、小型「類人猿」や旧世界ザル、原猿など多様な霊長類化石が発見されてきた。本研究ではこれらの霊長類化石の分析を目的としている。2015 年度は、2016 年 2～3 月にケニア国立博物館で主としてナカリ出土のオリジナル化石標本を調査した。霊長類研究所では、比較のために現生霊長類の骨格標本や霊長類化石レプリカコレクションの観察、計測をおこなった。ナカリの小型「類人猿」の研究を中心に作業を進めた。現在までに採集されたナカリの霊長類化石の中には 4 種類の小型「類人猿」が含まれており、これまであまり実態が知られていなかったアフリカ中新世後期初頭において、予想外に大きな多様性が保たれていた事を示唆するものである。

B-10 屋久島のニホンザルの腸内細菌の消化能力についての研究

牛田一成、土田さやか（京都府立大・生命環境） 所内対応者：半谷吾郎

屋久島の上部に棲息する個体群は、冬季に樹皮など消化が困難な食物に依存する割合が高いと想定される。その場合、腸内細菌が宿主の栄養にもたらす貢献は、より高いと推測できる。本研究は、2014 年度の共同研究（2014-B-27）において、大川林道周辺の上部個体群から分離後、純粋化できた *Sarcina ventriculi*（現在分類群変更のため *Clostridium ventriculi*）2 株について、全ゲノム解析を実施した。また、これまで西部林道および大川上流域の個体群の調査を行ってきたため、東部のヤクスギ林地帯に生息する個体群からも採材を試みた。

世界で初めて *S. ventriculi* のゲノム構造を明らかにした。本種のゲノムサイズは、約 2.5 Mb あり、GC 含量は約 27% であった。系統的には *C. perfringens* に近縁であったが、両種の平均ゲノム一致度（ANI）は、78% であった。

特徴的な遺伝子群として、パラクマル酸脱炭酸酵素や青酸化合物代謝系が含まれており、野生の食物に含まれる反栄養物質に対抗するための機能を、ヤクスギザル腸内細菌が提供していることが示唆された。

東部個体群からは、西部林道個体群と同様の菌種が分離されている。毒物分解などに有効と予想される菌種につについては、今後詳細解析を行う予定である。

B-12 自律的に歩容遷移を行うマカク四足歩行モデルの開発

長谷和徳、林祐一郎、伯田哲矢（首都大・理工） 所内対応者：平崎鋭矢

一般的な四足動物は後方交叉型と呼ばれる四肢の運動パターンによってロコモーションを行うが、ニホンザルなどのマカクは前方交叉型と呼ばれるロコモーション・パターンを持つ。本研究では、関節動態や神経系の運動制御機構などを考慮し自律的に歩容遷移可能なマカク類の四足歩行のシミュレーションモデルを作成し、さらに斜面などの力学的環境変化についても計算モデルとして表し、身体力学系を含む力学的環境変化と歩行遷移との関係を計算論的に明らかにすることを試みた。霊長類研で撮影したニホンザルのロコモーションデータや、歩容の特徴の知見を参照し、四足歩行の運動制御モデルの構築を行った。制御系モデルとして、従来の脚位相制御機構に体重心に応じた位相調整が可能な仕組みを導入した。また、地面の傾斜角度に応じて足先軌道の座標系の角度を変更できるようにした。これらの仕組みを導入することで、比較的緩やかな傾斜ではあるが、地面の傾斜角度に応じた歩行運動を実現できるようになった。ただし、現在の運動遷移には体重心の位置を明示的に入力するようになっており、制御の自律性は必ずしも高くない。今後はモデルの妥当性の検証と運動制御の自律性の更なる向上を目指す。

B-13 下肢骨格筋の形態と支配神経パターンの解析

荒川高光（神戸大・保健学）、渡邊優子（神戸大・医学）、幅大二郎（神戸大・保健学） 所内対応者：平崎鋭矢

前年度に続きアカゲザルとチンパンジーの下肢、とくに下腿の骨格筋とその支配神経の解析を行った。大腿部後面から皮膚剥離し、脛骨神経と総腓骨神経、そしてその支配筋群を肉眼で剖出、記録し、今回は足底筋とともにヒラメ筋の支配神経のパターンに着目した。支配神経パターンの神経束解析を行った。神経外膜を除去した神経束レベルでは、アカゲザルの足底筋は下腿の深層屈筋群と近く、ヒラメ筋は腓腹筋に近いとわかった。チンパンジーでは、足底筋はアカゲザルと同様であった。3 例中 1 例でヒラメ筋に前から入る筋枝が見いだされた。すなわちチンパンジーでは、全例でアカゲザルと同様のヒラメ筋枝を有すると同時に、ときに、ヒラメ筋に前から入る枝を持っており、それは下腿深層屈筋群と近い位置から分岐するものであった。踵骨腱付近に分布する枝も見つかったが、本枝は腱への知覚枝であろうと考えられた。ヒトではヒラメ筋に前から入る枝が恒常的に発見されるため、ヒトの直立二足歩行の採用にともなう系統発生において、ヒラメ筋の発達と足底筋の退縮に関係し、本神経支配パターンの種間差は重要な示唆を与えると考えられた。

B-14 ニホンザルにおけるサル T 細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療

松岡雅雄、安永純一朗、菅田謙治、馬広勇（京都大・ウイルス研） 所内対応者：明里宏文

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は成人 T 細胞白血病 (ATL)、炎症性疾患の原因ウイルスである。サル T 細胞白血病ウイルス 1 型 (STLV-1) は HTLV-1 に近縁のレトロウイルスであり、同様の病原性、複製機構を持っているため、HTLV-1 の新規治療法開発に有用な動物モデルである。CCR4 は HTLV-1 感染細胞、STLV-1 感染細胞に高発現するケモカインレセプターであり、抗 CCR4 抗体モガムリズマブは STLV-1 感染ニホンザルのプロウイルス量を減少させる。CCR4 は制御性 T リンパ球にも発現し、モガムリズマブの免疫賦活効果も注目されている。本研究は、モガムリズマブと STLV-1 bZIP factor (SBZ) 及び Tax ワクチンの併用による、より効果的な抗 STLV-1 (HTLV-1) 免疫療法の開発を目的とした。モガムリズマブ投与後に SBZ 及び Tax を発現するワクシニアウイルスを 5 回接種し、プロウイルス量、Tax 発現細胞数を解析したところ、モガムリズマブ投与直後と比較して Tax 発現細胞はさらに減少傾向となり、Tax に対する免疫応答の増強による効果と考えられた。本研究結果は国際雑誌 Scientific Reports に掲載された (Sugata K, et al. Enhancement of anti-STLV-1/HTLV-1 immune responses through multimodal effects of anti-CCR4 antibody. Scientific Reports, in press.)。

B-15 ひも引き協力課題を用いたマーモセットの協力行動

草山太一（帝京大・文・心理） 所内対応者：脇田真清

他者と協力作業を行うためには、相手の行動を正確にモニターし、それに合わせて自己の行動を調整する必要がある。比較認知的視点より霊長類での検討が欠かせないことから、コモンマーモセットを対象に協力行動の成立要件について実験的に検討した。今年度は実験計画の 2 年目として、昨年度に生じた実験遂行上の問題解決も含め、3 つの実験装置を用いて協力行動の生起について調べた。すでにチンパンジーなどで成功が報じられている、2 個体が同時にひもを引くことで報酬の入った容器を手元まで引き寄せられる仕掛けになっている装置を利用した「ひも引き協力課題」では個体同士がタイミングよく装置前に座ることは全く観察されなかった。また、「ひも引き」という行動指標は変えずに、2 個体の反応にズレが生じても課題解決できる別の装置を用いても、協力するような場面は認められなかった。2 個体が同時にレバーを押すことで報酬の入った容器の蓋が開く仕掛けの装置をセットし、協力行動が生起するかビデオ観察をおこなったところ、この課題では 2 個体による同時レバー押し反応が認められた。「他者との協力が必要である」という課題解決のための条件をマーモセットが理解できていたかについては慎重に答えを見つける必要がある。しかし、昨年度に引き続き、課題遂行時に 2 個体の距離が近いと、優位個体が装置を独占する行動が認められたことから、他者との目的（報酬）を共有することは難しいことが考えられる。

B-16 サル脊髄損傷モデルを用いた軸索再生阻害因子とその抗体による神経回路修復に関する研究

山下俊英(大阪大・院・医学系) 所内対応者：高田昌彦

霊長類モデルを用いて、軸索再生阻害因子と脊髄損傷後の神経回路網再形成による運動機能再建に焦点をあて研究を行ってきた。これまで、脊髄損傷後に軸索再生阻害因子のひとつである RGMa を阻害することによって、運動機能の回復および神経回路網再形成が促進されるという予備的な結果を得ている。今年度は、個体数を増やして再現性の検証を行った。その結果、RGMa 作用を阻害した群は、コントロール群（薬物投与なし）に比べ、運動機能の回復および神経回路網形成が促進されるという再現を得ることができた。さらに、新たに形成した神経回路網が機能的な神経回路であるか否かを確かめるため、電気生理学手法と神経活動阻害実験を併用して確認した。その結果、直接運動機能の回復に寄与する神経回路網が形成されていることが分かった。これらの結果は、サル脊髄損傷において、RGMa が治療法として有用である可能性を示唆するものであると考える。

B-17 Identification and Promoter/enhancer analysis of HERV-K LTR elements in primates

Heui-Soo Kim, Jungwoo Eo, Hee-Eun Lee (Pusan National University) 所内対応者：今井 哲雄

Human endogenous retroviruses (HERVs) and related sequences account for ~8% of the human genome. It is thought that HERVs are derived from exogenous retrovirus infections early in the evolution of primates. Among the three HERV classes, class II HERVs exist in the lowest frequency in the human genome, but they include the HERV-K family, which is the youngest family and is known to have actively mobilized since the divergence of humans and chimpanzees. For better understanding the regulatory mechanism, HERV-K expression in four primates was performed. First we tried RT-PCR with human reference gene; GAPDH, chimpanzee reference gene; EEF2, and HERV-K env. As the figure 1 shows, all four species' tissue has expression of HERV-K. In addition, the western blot was performed to check the protein expression of HERV-K and R env protein in various tissues of four kinds of primates. Each sample is labeled in the figure 1. The expression of HERV-K env protein shows expression in most of tissues except for pancreas, tongue, and testis (fig.2). Also, the orangutan ileum shows no expression. For HERV-R env protein, the expression pattern shows similar as HERV-K env protein. The HERV Env proteins were observed moderate to high levels in each tissue, showing tissue-specific or species-specific expression patterns. In addition, transcription factor binding sites for HERV-K102 was detected by the program called TRANSFAC v8.0 (fig.3). The primers were designed into 4 sets, with fixed reverse primer as shown in the figure 3. As a result of the luciferase assay, LTR primer (F4) shows the highest promoter activity from all four primers in both A549 and HCT116 cell lines. These data suggest a biologically important role for the retroviral proteins in a variety of the healthy tissues of primates.

B-18 ニホンザル野生群における infant handling の意義

関澤麻伊沙（総研大・先導研） 所内対応者：辻大和

群れで生活する霊長類では、他個体の産んだ新生児へ接触する行動（Infant Handling、以下、略して IH）が日常的にみ

られる。しかし、新生児へ接触を試みる個体（以下、ハンドラー）・母子双方にとってどのような意義があるのかは未だ明らかになっていない。本研究では、未だ研究例のないニホンザル野生群における IH の意義を明らかにすることを目的とする。昨年度に引き続き、宮城県金華山に生息する野生ニホンザル A 群において、今年生まれたアカンボウ 2 頭とその母親を対象として、出産日から生後 3 ヶ月齢を超えるまで個体追跡による行動観察を行った。ハンドラー、IH の内容、母子の反応、母親とハンドラーの交渉について、計 217.5 時間分のデータを収集した。現在はデータ入力を行っている。アカンボウの数は昨年度 17 頭、今年度 2 頭と大きく異なっているため、入力が終わり次第、昨年度のデータと併せ、アカンボウの数の増減がハンドラーと母親間での交渉に影響を及ぼしているのかどうかを検証する。特に毛づくろい交渉に注目をし、アカンボウの数に依存してハンドラーによる母親への毛づくろい量に変化するかどうかを検証する予定である。

B-19 Population genetics of *Macaca fascicularis* (long-tailed macaque) throughout Thailand: mainly focus on their hybridization range with *M. mulatta* (rhesus macaque)

Srichan Bunlungsup, Suchinda Malaivijitnond (Chulalongkorn University)

所内対応者：今井啓雄

The aim of this study is to investigate the impact of zoogeographical barriers in Thailand on the genetic structure of long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) and their hybridization with rhesus macaques (*M. mulatta*). mtDNA and Y-chromosome (SRY and TSPY) genes of long-tailed and rhesus macaque living in Thailand and vicinity were analyzed. Based on mtDNA analysis, all monkeys were divided into five clades; Sundaic insular, Sundaic Thai Gulf, Vietnam, Sundaic Andaman Sea coast and Indochina, respectively. Interestingly, monkeys lived at the Sundaic peninsular were separated into Thai Gulf and Andaman sea side, and the latter was grouped with Indochinese population. We supposed that during the glacial period, some monkeys from South-easternmost Indochina (Southern Cambodia/Vietnam) migrated across the land bridge westward to peninsular Malaysia, moved northward along Andaman Sea coast and inhabited the areas. From Y-chromosome analysis, the limited gene flow from male rhesus macaques southward to long-tailed population was detected around the Isthmus of Kra. Though, our findings support the previous reports, the more complex results are found.

B-20 種特異的ノンコーディング RNA によるほ乳類脳神経機能分化

今村拓也（九州大・医学研究院）

所内対応者：今村公紀

本課題は、ほ乳類脳のエピゲノム形成に関わる non-coding RNA (ncRNA) 制御メカニズムとその種間多様性を明らかにすることを目的としている。チンパンジーを含むほ乳類 5 種の 5 組織を用いた比較トランスクリプトーム解析の結果、プロモーター ncRNA である pancRNA は発現プロファイルと塩基配列の点で生物多様性が高いということ、pancRNA を持つ遺伝子は組織特異的な発現を示す傾向にあること、数百の生物種特異的 pancRNA が存在しているということが明らかになった。最も大事な発見は、生物種特異的 pancRNA を獲得した遺伝子の発現が、pancRNA が無いオーソログに比べて、その組織特異性が強まっている傾向が顕著であったことであり、この現象はエピゲノム変化と良い相関を示した。さらに、マウス大脳皮質特異的発現を示す pancRNA の機能解析から、実際に種特異的 pancRNA が遺伝子発現活性化に寄与し、表現型発現に結びついていることを示した。したがって、種特異的 pancRNA が獲得され、配列特異的エピゲノム修飾パターン形成を介して、種特異的遺伝子発現スイッチの獲得に至ることが考えられた。現在、エンハンサー RNA の解析を進行中であり、pancRNA との機能相関を調べているところである。

B-21 数学モデルを用いた霊長類大腿骨形態の解析

稲用博史、関幸夫（医療法人社団いなもち医院）

所内対応者：平崎鋭矢

Wolff の法則によれば、骨は力学的ストレス（荷重）を受け、力学的に最適な形状となる。この最適化理論を数式で表現し有限要素法を用いて数値的に解を求めると骨に対する力学的条件を推定することが出来る。

ヒトとチンパンジーを比較すると、ヒトは直立二足歩行し、ヒトには、Bicondylar Angle と呼ばれる大腿骨の傾きがある。Tardieu によれば、ヒトの Bicondylar Angle は 10 度、チンパンジーの Bicondylar Angle は 1~2 度である。

ヒトにおいては、大殿筋が大きく、大殿筋によって緊張を高められた腸脛靭帯は外側から大転子を強く圧迫することにより、圧迫力は大腿骨骨幹部を通じて内顆に伝わる。この力に対応して、内顆においては大腿四頭筋内側広筋による内側からの圧迫力が生じる。

他方、チンパンジーにおいては大殿筋による腸脛靭帯の大転子への圧迫力はない。また、同時に内顆における大腿四頭筋内側広筋による圧迫力も生じない。

骨形状の力学的最適性理論を用い、上記の力学的条件による形状の解を数値計算により求めると、ヒトでは 10 度の Bicondylar Angle を持つのに対し、チンパンジーの大腿骨では Bicondylar Angle は 2 度となる。これは、Tardieu による報告に近い。

これ等の比較により、大腿骨近位部における外力が、大腿骨遠位部における外力と釣り合うことによって顆間角が形成されることが証明できる。

B-22 霊長類におけるヒトの皮膚の表現型の特性について

荒川那海、颯田葉子、寺井洋平（総研大・先端研）

所内対応者：今井啓雄

ヒト特異的な形質は多く知られており、皮膚での体毛の減少や汗腺の増大はその例として挙げられる。本研究では、ヒト特異的な皮膚の形態的および生理的な表現型がどのような遺伝的基盤によって生み出されているのか、ヒトと類人猿間の皮膚での遺伝子発現量比較から明らかにすることを目的としている。

ヒト特異的な皮膚の形質に関係している遺伝子を網羅的に把握するために、ヒト、チンパンジー、ゴリラ、オランウータ

ン各種 3 個体ずつの皮膚サンプルを用いた RNA 発現量解析(RNA-Seq)を行った。ヒトのゲノム配列を参照配列として、全ての遺伝子の発現量をそれぞれの個体ごとに算出し、ヒトと類人猿の間で統計的に有意に発現量差のある遺伝子を抽出したところ、ヒト特異的な皮膚形質に関わる複数の遺伝子が検出された。

また、ヒトと類人猿の遺伝子発現量差を生み出している発現調節領域を特定するために、ルシフェラーゼをリポーター遺伝子としたプロモーターアッセイの系を立ち上げた。今後、ヒトと類人猿の皮膚の形質の違いに関する文献情報と合わせることで、ヒト系統で起きた変異によってヒト特異的な形質が獲得されていった進化の過程を示唆できると考えている。

B-23 マーモセット iPS 細胞由来神経細胞を用いたプロモーター評価系の確立

今野歩, 高橋伸卓, 新田啓介 (群馬大・医) 所内対応者: 今村公紀

我々は、小型の霊長類であるマーモセット脳内で、ニューロン種特異的に発現誘導するプロモーターの開発を行っている。しかし、これまで齧歯類で実施していたようにプロモーター活性や特異性の検討を動物脳内で実施することは、マーモセットの購入費用 (1 頭あたり約 50 万) や動物倫理的観点などから、現実的ではない。そこで、動物個体内でのアッセイに代替し、マーモセット iPS 細胞由来の培養神経細胞を用いたプロモーター活性の検討を行う系の確立を目指した。

平成 27 年度は、マーモセット由来のプロモーターとして VGAT、VACHT プロモーター等のクローニングを実施し、レンチウイルスベクターによって GFP を発現するベクターへの搭載を完了した。一方、マーモセット由来 iPS 細胞の作成に関しては、マーモセット線維芽細胞へのリポフェクションによって初期化 6 因子を導入する「霊長研メソッド」を実施した。リポフェクション後、3~4 週間程度で、iPS 細胞様のコロニーが得られ、多能性の指標であるアルカリホスファターゼ染色 (AP 染色) 陽性のコロニーが確認された (図参照)。しかしながら、その後の培養がうまくいかず、自然と分化し始めてしまう細胞が多く確認された。今後、培養条件のさらなる検討を行う予定である。

B-24 マカク属内腸骨動脈分枝の形態学的特徴と周辺構造物との相互関係

姉帯飛高 (埼玉医大・保健) 所内対応者: 平崎鋭矢

内腸骨動脈分枝のうち下肢帯へ分布する壁側枝は上殿動脈(Gs)や下殿動脈(Gi)等があり、起始や走行が多様である。壁側枝を含む内腸骨動脈の多様性は Quain(1844)はじめ古くから調査されているが、比較解剖学的資料は乏しい。研究代表者はニホンザルとカニクイザルの内腸骨動脈壁側枝とその周辺構造物を調査した。

ニホンザルは Gi が Gs または内陰部動脈と共同幹を形成し仙骨神経叢の S1/S1 間を貫き、カニクイザルは Gs と Gi が共同幹を形成し腰仙骨神経叢 L7/L7 または L7/S1 間を貫く傾向があった。またニホンザル・カニクイザル両種において、Gs が神経叢を貫く位置が神経叢の分節変動に影響される傾向は共通していた。しかし、同じマカク属でありながら内腸骨動脈の分岐型、特に Gi の分岐位置に明らかな差が見られた。

Gi は主に浅殿筋を栄養する動脈であり、浅殿筋は運動様式に応じた形態適応が明らかな筋の 1 つである。ニホンザルとカニクイザルの運動様式は一部異なり、浅殿筋の形態に差がみられる可能性がある。運動様式の差と筋骨格系の適応変化に、血管系も何らかの適応をみせる可能性が示唆された。今後 Gi の形態について浅殿筋の形態を含めて調査を進める必要がある。

B-25 奥多摩湖周辺の野生ニホンザル「山ふる群」の調査と環境教育

島田将喜, 古瀬浩史 (帝京科学大・アニマルサイエンス)、坂田大輔 (山のふるさと村・ビジターセンター)

所内対応者: 辻大和

2015 年度の調査で得られた山ふる群の推定最大頭数は 88 頭であった。2013 年度以降 2015 年 10 月までの調査で、1 度でも採食が認められた食物は、同定できた植物が 77 種 (122 部位) であった。これに種不明のマメ科 (3 部位)、種不明のつる性植物 (3 部位)、種不明の草本類 (1 部位)、昆虫類、キノコ類である。通年で見た場合、観察された採食の回数の多かったのは、オニグルミの種子、サクラ属の果実、草本類、カキノキの果実、クズの葉、サクラ属の葉、ヤマグワの葉である。2015 年度の調査中、山ふる群のサルが民家付近の農作物や果樹などを採食する行動は、一度も観察されなかった。年間の推定遊動域の全体は、奥多摩湖の南岸一帯をコアエリアとする、湖を大きく取り囲む領域であることがわかった。解放水域を除く遊動面積は 33.0km² であった。山ふる群は遊動域内に存在するきわめて多様な植物性資源を利用しているが、もっとも強く依存する食物資源は、かつて山のふるさと村周辺地域に暮らしていた人々が放棄した植物である。しかし遊動域内の植生の生産量が十分な年には、山ふる群のサルたちは民家のカキノキなどを食べるようなリスクを負わないことが示唆された。

B-26 中部山岳地域に生息するニホンザル個体群の遺伝子モニタリング

赤座久明 (富山県自然博物館ねいの里) 所内対応者: 川本芳

遺伝子解析により、中部地方に生息するニホンザルの群れや地域集団の類縁関係を明らかにし、地域個体群の成立過程を検討することを目的にして、DNA 試料の野外採集と分析を行った。

2015 年 6 月から 11 月にかけて、滋賀県杉野川、岐阜県揖斐川流域で DNA 試料の糞を採集した。分析の結果、ミトコンドリア DNA 調節領域(mtDNA-CR)(1015 塩基対)から、A タイプ(杉野川、揖斐川)、B タイプ(揖斐川)、2 つのハプロタイプを検出した。2 タイプの第二可変域に注目して、ハプロタイプを分類(Kawamoto et al 2007)すると、A は JN21 タイプ、B は JN30 タイプであった。JN21 タイプは、第一可変域に 10 種類のハプロタイプを持っており、揖斐川の JN21 集団は先行研究により石川県白山の集団や岐阜県長良川の集団と共通のタイプであることが分かっていたが、今回の調査で、同じタイプが滋賀県杉野川流域にも分布する可能性が考えられた。JN21 集団は近畿地方から中部地方にかけて広域に分布し

ている集団であるが、このうち日本海沿い分布している4タイプの集団（西からA：京都、B 滋賀・福井、C 石川・岐阜、D 富山）について、mtDNA ハプロタイプのネットワーク解析（TCS 解析）を行った結果、遺伝的な近縁関係は、A→B→D→C の順に並び、必ずしも地理的位置関係と一致しないことが分かった。研究成果を2015年10月25日に霊長類研究所で開催された共同利用研究会「ニホンザル研究のこれまでと、今後の展開を考える」で公表した。

B-27 霊長類後肢骨格の可動性

佐々木基樹、近藤大輔（帯広畜産大・基礎獣医学） 所内対応者：平崎鋭矢

昨年度解析したニシローランドゴリラの個体に加えて、新たに雄のニシローランドゴリラ1個体の後肢を、CT スキャナーを用いて非破壊的に解析し趾の可動域を前年度の個体の結果と比較した。さらに、これらのデータをチンパンジー、ニホンザル、そしてスマトラオランウータンの可動域と比較検討した。これまでの解析方法と同様に、第一趾を最大限伸展および屈曲させた状態でCT 画像撮影をおこなった。得られたCT 断層画像データを三次元立体構築して、第一趾の可動状況を観察した。今回解析したニシローランドゴリラの第一趾の第一中足骨は上下斜め方向に可動面を持つニホンザルやチンパンジーとは違って足の背腹平面で可動しており、その可動域は同じ背腹平面で第一趾を可動させているチンパンジー3個体のものと比較すると顕著に大きかった。このことから、ニシローランドゴリラの背腹平面における大きな第一趾の可動域は、個体差ではなく種特異的な形態学的特徴である可能性が高いと考えられる。

B-29 新世界ザルに保存された鋤鼻器の機能を探る

守屋敬子（東京都医学研） 所内対応雄者：今井啓雄

鋤鼻器はフェロモンなどの化学物質を受容する器官として機能しているが、ヒトを含む狭鼻猿類では痕跡化している。しかし、鋤鼻器の感覚センサーである鋤鼻受容体は僅かに保存されており、ヒトで3遺伝子、他の狭鼻猿類で0~4遺伝子存在する。一方、原猿類は齧歯類並みの発達した鋤鼻器を持ち、鋤鼻受容体も多様である。その中間に位置するのが広鼻猿類で、鋤鼻器を持つが、ゲノム上の機能的な鋤鼻受容体数は大幅に減少しており、コモンマーモセットでは7遺伝子のみである。霊長類における鋤鼻器退化および鋤鼻受容体数の減少の歴史をひもとくには、広鼻猿類が保有している鋤鼻器の機能を理解する事で推測出来ると考え、コモンマーモセットを対象に研究を行った。

コモンマーモセット鋤鼻受容体の *in situ* ハイブリダイゼーションを行ったところ、鋤鼻で発現しているものは5遺伝子であった。そのうち2遺伝子は嗅上皮でも発現が確認された。残りの3遺伝子は鋤鼻特異的に発現していた。分子進化的解析よりこの3遺伝子は広鼻猿類の中で遺伝子重複を起こしたと分かった。それ以外の遺伝子は他の哺乳類鋤鼻受容体との相同性が高かった。それらは、鋤鼻以外の臓器にも発現していることから機能については更なる研究が必要である。

B-31 金華山におけるワカモノメスのアロマザリングの個体差と自身のアカンボウへの育児行動との関連

島田朋美（帝京科学大・院・環境マテリアル） 所内対応者：辻大和

ニホンザルにおけるアロマザリング（母親以外の個体による育児行動）の研究は飼育下や餌付け群で多く行われており、1~2歳のコドモ、未経産のワカモノメスによくみられる。そこで本研究では野生ニホンザルのアカンボウの視点から母親以外がどのように関わるのか、アロマザリングに注目し検討を行った。金華山島のニホンザルB1群（群れの頭数は2014年35頭、2015年33頭）を対象とし、そこで生まれたアカンボウ（2014年11頭、2015年2頭）を対象個体として、2014年、2015年の4~7月に計138時間の個体追跡を行い、対象個体の行動、対象個体への社会交渉の相手と内容について記録した。その結果、アカンボウへのアロマザリング頻度が最も高いのは2014年ではオトナメスの2.5回/h、2015年ではコドモからの2.8回/hであった。しかしオトナメスは2015年では0.8回/h、コドモは2014年では0.3回/hと年によって頻度に差があった。これは年によってコドモの数が違うことに大きく影響を受けていると考えられる。また抱擁・運搬・グルーミングについて個体ごとに分析を行った結果、ほとんどの個体が10回未満なのに対し、オトナメス（経産メス・高順位）が122回、次点ではワカモノメス（未経産・中順位）の48回であった。そこからアカンボウとの血縁関係に注目して分析するとオトナメスは血縁に対し13回、非血縁に対しては109回、次点のワカモノメスは血縁43回、非血縁に5回であった。先行研究でコドモやワカモノメスに多くみられたのは、血縁者のアカンボウが多かったのではないかと考えられる。また育児行動の回数が多かったオトナメスは2歳以下のコドモをもっておらず、高順位なのも要因の1つであると考えられる。

B-32 霊長類における神経栄養因子の精神機能発達に与える影響

那波宏之、難波寿明（新潟大・脳研・分子神経） 所内対応者：中村克樹

神経発達障害を病因とする統合失調症などのヒト精神疾患をモデル化するには、よりヒトに遺伝子や行動パターンが類似する霊長類が最適と考えられる。共同研究者らは、新生仔ネズミの皮下に神経栄養性サイトカインである上皮成長因子（EGF）やニューレグリン1などを投与することで、思春期以降に種々の認知行動異常を呈する統合失調症モデルを樹立しているが、実際、ヒト霊長類でも再現されるかは不明であった。本共同利用研究課題では、サル霊長類でもサイトカインの新生児投与で発達依存性の認知行動変化が起こせるかどうか、マーモセットおよびアカゲザルを用いて検討している。

これまでにマーモセット新生児4頭へのEGF投与を実施してきているが、2010年にEGF投与を皮下投与されたマーモセットは、3歳を越えた段階で、活動量の上昇やアイコンタクトの頻度低下を示し、逆転学習課題等の認知行動課題においてその能力が著しく低下していることが判明した。満3歳を迎えるマーモセットは、ビデオによる行動観察に加え、MRIを用いた構造およびDTIのデータ取得を行った。また、2012年と2014年に合計マカク新生児3頭へEGF投与も実施している。2頭は飼育担当者から行動がおかしいと報告があり、個別飼育のケージに移したところ、ヒトに対して恐怖

反応を示さないなど情動行動の異常が観察されている。

B-34 The Comparative Biomechanics of the Primate Hand.

William Irvin Sellers (University of Manchester) 所内対応者：平崎鋭矢

This project was focused primarily on the acquisition of a range of comparative biomechanical data in order to better understand the evolution of manual dexterity among the primates. Our primary dataset was obtained by filming individual animals held at PRI. This entailed extensive preparation work at PRI ensuring access to the enclosures and adequate space for setting up the cameras and lights needed for the experiments as well as designing suitable arrangements for allowing the subject animal to interact manually with various food items. The filming itself was carried out over a 2 week period in August 2015 and was in general very successful. For the first time we used 8 synchronised cameras and this allowed us to cover a larger angular range for better 3D reconstruction. However this innovation was not without its difficulties since it meant that we generated a great deal of raw data and the time taken for data transfer and archive is appreciable. The extra cameras also produced a number of hardware challenges with reliable synchronisation that had to be overcome. We also trialed new software for 3D photogrammetric reconstruction and this, coupled with the extra cameras, means that we have achieved our basic objective of capturing the 3D finger movements in Japanese macaques, capuchin monkeys, and a spider monkey in manual feeding tasks involving different sized food items. This is a major achievement and is the first time such data have been obtained. However we are still at the stage of data analysis. Our current system captures the 3D outlines automatically but the underlying skeletal movements that are an essential part of understanding the musculoskeletal processes need to be calculated based on surface anatomical feature. This calculation process requires considerable operator intervention in its current form and it extremely time consuming. We are therefore currently working on automatically fitting hand outlines to the point cloud data so that the skeletal movements can be extracted both more accurately and much more rapidly. We are similarly working on how to best present this complex, multidimensional dataset in a form suitable for publication since this is the first time such data has been examined in this way. At the same time it has become clear from our initial analysis that we need to improve some aspects of our experimental design. It is likely that the camera placement used with 8 cameras could be improved and we wish to trial different camera arrangements to improved the directional coverage, and reduce the issues associated with fine finger movements being obscured. In addition we need to extend the range of hand use tasks to cover a wider range of grip styles. The monkeys have strong grip preferences and the current tasks only allow subtle differences associated with different sized food items. We therefore need to experiment with a larger range of manual tasks including locomotor hand use so that we can measure the major classes of hand use that have been described in the literature.

B-35 霊長類精原幹細胞の解析

久保田浩司, 垣内一恵, 高橋将大 (北里大・獣医) 所内対応者：今村公紀

雄の生涯に渡る精子形成は精原幹細胞の自己複製によって維持されている。しかし霊長類の精原幹細胞の実体はほとんど明らかにされていない。本研究はこれまで申請者が明らかにしてきたマウス、ラット、ラビット精原幹細胞の性状および開発したそれら精原幹細胞の自己複製を促す無血清培養系をもとに霊長類精原幹細胞の性状解析と長期培養系の確立を目指している。霊長類研究所からの新鮮精巣試料は得られなかったため、実験動物中央研究所より供試されたマーモセット精巣試料を用いて、フローサイトメトリー、免疫組織化学解析、及び培養細胞の免疫細胞化学解析を行った。未だマーモセット精原幹細胞の同定には至っていないが、齧歯類・ラビットの精原幹細胞培養系においてマーモセット精原細胞の維持が可能であることが示唆された (図)。現在、継続して解析を進めているが、並行して新鮮精巣及び培養細胞におけるマーモセット精原幹細胞活性の評価系の開発を進めている。

B-37 Determining the correlation between primates abundance and habitat quality index based on the application of protein-to-fiber ratio analysis of mature leaves of dominant tree species in logged forests in Sabah, Malaysia

Henry Bernard (Institute for Tropical Biology and Conservation, Universiti Malaysia Sabah) 所内対応者：松田一希

Discussions have been made with my local research collaborator (DR. Ikki Matsuda) during the short term visit to PRI on the potential of using habitat quality index, measured as mature leaves protein-to-fiber ratio, to predict primate population abundance at local spatial scales in Sabah. The analysis was further extended to include not only research sites in Sabah, but also sites elsewhere in Kalimantan, Sumatra and Peninsula Malaysia. All raw data on crude protein and fiber (ADF) from 6 different sites on Borneo (i.e., 5 sites in Sabah and 1 site in Kalimantan) and 1 site in Sumatra have been integrated. In addition, secondary data from 1 site in peninsular Malaysia were obtained and included in the overall data pool. Altogether, the data set combined represented the crude protein and ADF of mature leaves of dominant tree species from Abai, Sukau, Danum Valley, Kalabakan, Klias, Sebangau, Pangandaran and Kuala Lompat. However, the main issue with regard to estimating folivores primate biomass at the different sites remains unresolved, due to differences in the methods used to estimate the primate biomass at the different sites. Moreover, there were sites where primate biomass estimates are non-available. Therefore the analysis between habitat quality index and primate biomass for the different sites is still pending. It was envisaged, however, that this issue will be settled in the near future. A discussion was also held on how to write the paper in connection with the obtained data and intensive literature research was made based on available resources at PRI. All chemical analysis of leave samples have been completed and a simple laboratory procedure to assess particle size of primate feces have been observed. The primate particle size analysis may become useful in the future in connection with dietary studies of primates which is a topic related to the current data analysis on leaf quality index. During the visit, a draft paper co-authored by Dr. Ikki Matsuda and other colleagues, was produced which has been submitted for potential publication. Lastly, we have discussed concerning future research collaboration between ITBC, UMS and PRI.

B-38 霊長類 ES,iPS 細胞分化に与える環境化学物質の影響

高田達之 (立命館大・薬学部), 檜垣彰吾, 三ツ石弥千代 (立命館大・グローバルイノベーション)
所内対応者：今村公紀

ヒト iPS 細胞を使用し、レチノイン酸存在下において分化培養を行った。この際、様々な環境化学物質を培地に添加し、未分化マーカー遺伝子、細胞分化マーカー遺伝子・レチノイン酸応答遺伝子の発現変化を real-time PCR を用いて解析した。その結果、ビスフェノール A およびノニルフェノールが未分化マーカー遺伝子およびレチノイン酸応答遺伝子発現に与える影響することがわかった。現在そのシグナル伝達経路を解明すべく、マイクロアレイを用い、gene set enrichment 解析を行っている。

また化学物質がエピジェネシスに与える影響を明らかにするため、LC/MS/MS による、メチルシトシン(mC)、5 ヒドロキシメチルシトシン(hmC)の微量定量法を開発し、まずカニクイザル組織中の mC,hmC の定量を行った。霊長類においても脳組織に高い hmC(0.8%/G)が検出され、中枢神経系における hmC の機能が示唆された。次にマウス卵において受精後の DNA の脱メチル化の微量定量解析を行った。これにより、リプログラミング過程における DNA メチル化動態を初めて定量的に解析することができた。その結果、父方ゲノムにおいては、DNA 複製前から急激な脱メチル化が生じ、受精 10 時間後には約 40%低下すること、受精後 10-48 時間 (2-cell から 8-cell) はメチル化レベルがほとんど変化せず、その後再び低下し、胚盤胞期胚では mC 量は約 1%となることが明らかとなった。また 5hmC レベルは常に低く、特に受精後 3-6 時間においては 5mC の低下と 5hmC の生産は相関していないこと、雄性発生胚でのみ 5hmC が高いレベルで検出され、母方ゲノムとの関連性が示唆された。

B-39 口腔における感覚受容機構の解明

城戸瑞穂, 合島怜央奈 (佐賀大・医), 木附智子(九州大・院・歯学) 所内対応者: 今井啓雄

適切な口腔感覚は、哺乳類において哺乳・摂食・情報交換など多様な行動の基盤となっている。しかしながら、その機構についての理解はまだ限られたものである。私たちは、(狭義の) 味覚とされる甘味・塩味・酸味・苦味・うまみ以外の口腔内の感覚、とくに、温度感覚や唐辛子や胡椒などのスパイスなどのへ感覚、触圧感覚などの機構の解明を目指し、こうした広義の味覚とされる感覚の分子基盤として、TRP チャネル (transient receptor potential channel) を想定し研究を進めている。そして、ヒトにより近いサルにおける発現および機能的側面を調べ、これまでにげっ歯類にて得た結果と比較することを目的とした。

今年度は、新たに作製した TRP チャネル抗体がサル組織を認識するかを調べ、特異的な標識を得るための条件検討を行った。今までの結果では、非特異反応も混在しているようであるため、今後、試料採取や保存等の条件も含め検討を行う予定である。

B-40 下北半島脇野沢の野生ニホンザル群の分裂が個体群動態に与える影響

松岡史朗, 中山裕理 (下北半島サル調査会) 所内対応者: 古市剛史

個体数増加傾向にあった下北半島南西部の A87 群は 2012 年に 83 頭に増加し、2013 年 4 月に 43 頭 (87A 群) と 22 頭 (87B 群) の 2 群に分裂した。分裂 3 年目の 2015 年度の出産率、赤ん坊の死亡率は各々、87A 群 37%、0%と分裂前の高い出産率、低い死亡率の状態に戻った。分裂前 (1984~2011 年) 分裂後 (2013 年以降) の群の増加率、出産率、0~3 歳の死亡率、遊動距離を比較してみたが、どれも変化は見られなかった。分裂年度 2012 年に見られた 0~3 歳の高い死亡率はこのときのみ現象であった。分裂前、年々増加傾向にあった群れの遊動面積は、分裂後も縮小は見られず、今年度は、さらに新たな地域への遊動が観察された。これは、隣接する 84 群の捕獲による個体数の減少、遊動域の変化の影響も考えられるが、明確なデータはいまのところない。

B-41 大型類人猿における手首・大腿部の可動性の検証

中務真人, 森本直記, 野村嘉孝, 近藤芽衣, 江崎俊介, 小林諭史 (京都大学・理・自然人類学研究室) 所内対応者: 西村剛

化石から過去の人類がどのような歩行様式を有していたかを推定するには、歩行に関連する関節の可動域推定が重要である。化石標本における関節の可動域を推定するために、霊長類研究所所蔵大型類人猿標本 (冷凍・液浸) について、X 線 CT 撮像を行った。今年度はチンパンジー 5 個体、ゴリラ 1 個体を新たに追加した。現在、アルディピテクスの手根の運動機能を正確に復元する試みに集中し、チンパンジーのデータを元に軟部組織がついた状態での最大背屈姿勢を PC 内で骨のみから正確に再現するための方法を検討中である。また、手根関節での関節軟骨の厚さがチンパンジーでは予想以上に厚いため、関節軟骨の有無が化石標本におけるこうした推定に及ぼす影響も検討している。また、このデータ収集に関した派生的プロジェクトとして、手の中手基節関節における種子骨の出現頻度を検討した。この特徴 (喪失) は大型類人猿の派生的形質として考えられているが、報告例が不十分であった。これまでの結果とあわせ評価を行ったところ、大型類人猿で母指列の種子骨が高頻度で失われている結果を得た。この成果は日本霊長類学会において発表した。

B-42 豪雪地域のニホンザルによる洞窟利用のモニタリング

柏木健司 (富山大・理) 所内対応者: 高井正成

「豪雪地域に棲息するニホンザルは、防寒のために洞窟を利用する」、この生態は富山県東部の黒部峡谷で 2010 年に初めて確認され、継続的な現地調査と自動センサーカメラによる観察により、より詳しい生態の解明が進められている。一方、この生態が黒部峡谷に棲息するニホンザルが獲得した特異な生態なのか、それとも日本列島各地の豪雪地域に棲息するニホンザルに共通するものなのかは、それを判断するに足る情報に絶対的に不足している状況であった。

栃木県日光市野門の山腹斜面には、野門鉦山の坑道跡が知られている。また、野門周辺は冬期間、定常的な積雪が観測される地域であり、ニホンザルの洞窟利用の検証に適した地域の一つである。今回、野門鉦山の坑道跡において、冬季排泄のニホンザルの糞を確認した。糞は、洞口付近で数百個と多量であり、さらに洞口から 5 m 強の地点に於いても、100

個強の糞が密集している。胡桃大の糞は、しばしば繊維質の物質で数個が連結し、糞表面には植物起源の破片が多量に見られる。辻 大和博士による糞内容物の検討によると、ほぼ 100 %に近い割合で樹皮から構成される。野門地域のニホンザルは、厳冬期、防寒のために坑道に入り、サル団子を形作り寒さをしのいだ。「ニホンザルの洞窟利用は、豪雪地域におけるニホンザルに共通する生態である」という仮説を立証するための、新たなデータが加わった。

B-43 一卵性多子ニホンザルの作製試験

外丸祐介, 信清麻子, 吉岡みゆき (広島大・N-BARD), 畠山照彦 (広島大・技術センター) 所内対応者: 岡本宗裕

本課題は、動物実験に有用な一卵性多子ニホンザルの作製を目指すものであり、これまでに体外培養系卵子・受精卵の操作・作製に関する手法の確認を進めながら、分割受精卵の作製試験に取り組んできた。平成 27 年度は、6 頭の雌から採卵試験を行い、体外受精卵の作製と凍結保存の検討を行った。凍結保存の手段としてガラス化法を用いて保存する受精卵のステージを検討した結果、胚盤胞に比べて 8 細胞期～桑実胚の場合に高い生存率が得られることがわかった。また、平成 26 年度末以降に、2 頭のレシピエント雌に凍結保存した分割受精卵の移植試験を実施した結果、1/2 例で妊娠が確認された。最終的には死産ではあったが妊娠満期の産仔を得ることに成功し、体外受精→受精卵分割→凍結保存を経た受精卵が個体発生能を持つことが確認できた。今後は更に移植試験を継続することで、一卵性多子ニホンザルの作製を達成したいと考えている。

B-44 全ゲノムシーケンスデータ解析に基づく解析困難領域の同定と遺伝的多様性の解析

藤本明洋 (理化学研・総合生命医科学研究センター) 所内対応者: 古賀章彦

申請者らは、日本人 108 人の全ゲノムシーケンスデータより、解析困難な領域を抽出した(解析困難な領域は、ヒト標準ゲノム配列に存在しない配列と多様性が極めて高い領域より選出した)。また、それらの配列を濃縮するためのアレイ(解析困難領域アレイ)を作成した。

共同利用で提供を受けたチンパンジーのゲノム DNA をアレイで濃縮し、平均サイズ 2080bp の解析困難領域由来の DNA を得た。両側にアダプターを付加し、第 3 世代シーケンサー用のライブラリを作成した。このライブラリを PacBio RS を用いてシーケンスし、59,994 本のリード(総塩基数 1Gbp)を得た。PacBio RS はシーケンス長が長いものの、エラー率が極めて高い。エラーの補正のため、同じライブラリを第 2 世代のシーケンサー MiSeq でシーケンスした。MiSeq によるシーケンスの結果、11,587,746 本のリード(総塩基数 1.7Gbp)を得た。

現在は、MiSeq によりシーケンスされた配列を PacBio RS でシーケンスされた配列にマッピングし、エラーの補正を行う解析パイプラインを構築している。マッピングプログラムとして、多型性が高い領域に対するマッピングを得意とする SHRiMP2 ソフトウェアを選出した。様々なパラメーターで、第 3 世代シーケンサーのデータに対して、第 2 世代シーケンサーのリード配列をマッピングし、マッピング率の比較を行っている。

B-45 マカク歯髄幹細胞による歯髄再生法の開発

筒井健夫, 小林朋子, 松井美紀子 (日本歯科大・生命歯学) 所内対応者: 鈴木樹理

平成 27 年度は、前年度にニホンザル 2 例の下顎左側乳犬歯と下顎左側第一乳臼歯それぞれの歯髄腔へ歯髄細胞の三次元構築体を 9 ヶ月間移植し、抜歯後に X 線解析と組織学的解析を行った。新たに、ニホンザル 2 例について三次元構築体を下顎右側乳犬歯と下顎右側第一乳臼歯それぞれの歯髄腔へ 3 ヶ月間移植し、抜歯後脱灰を行っている。また、移植した乳歯歯髄細胞についての細胞特性解析は、ヒト乳歯歯髄細胞との比較検討を行った。ニホンザル乳歯歯髄細胞はヒト乳歯歯髄細胞と比較し位相差顕微鏡による形態学的観察では、ニホンザルでは線維芽細胞様形態が観察され、ヒトではより紡錘形の線維芽細胞様形態であった。細胞増殖曲線において、ニホンザル 1 例ではヒトと比較し同程度の増殖能がみられ、また細胞周期解析においては、ニホンザルではヒトと比較し G₀/G₁ 期の減少および G₂/M 期の増加が解析された。石灰化誘導によりニホンザルでは、誘導後 3 週目にアリザリンレッド染色において陽性像が観察され、ヒトでは誘導後 2 週目に陽性像が観察された。さらに脂肪分化誘導によりニホンザルでは 17 日目に、またヒトにおいては 2 週目に陽性像が観察された。9 ヶ月間移植を行った乳歯の X 線像には、乳歯歯冠歯頸部と歯髄腔内に X 線不透過像が観察された。組織学的解析では、歯髄腔内に修復象牙質様組織像および象牙質粒様組織像の形成が認められた。

B-46 福島県に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生虫病および感染症に関する疫学調査

浅川満彦, 萩原克郎 (酪農学園大・獣医学群) 所内対応者: 岡本宗裕

福島県に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の個体群は、管理の不十分さから、現在、そのサイズを急増させ、周辺地域で悩ましい問題が包含される。すなわち、地元住民の生活を農産物の害獣として圧迫すること、あるいはサル・人との極めて接近した状態は感染症というバイオリスクも併存するなどである。このような異なった性質を具有する個体群であるが、双方に関わるのが感染性病原体 agents である。前者では個体群の急増は感染論的に非常に危機的である。後者の場合、ヒトへの感染リスクも当然であるが、結核菌・ヒト蟻虫のようにヒトからサルへの感染があり、それが agents の新たなソースになる可能性もあろう。このような複合した問題に、申請者と共同研究者がこれまで実施した技術を用い、共同して網羅的な agents 侵淫状況の疫学調査を実施し、ヒト・動物双方の感染症予防施策の基盤とすることを目的としてきて。昨年 7 月は福島で有害捕獲されたニホンザル個体の蠕虫検査を継続するとともに、捕獲されている地点の一つ、摺上川など共同研究者である日本獣医生命科学大学の羽山伸一教授が拠点とするフィールドを実見した(下記写真集参照; 申請者、摺上川ダム、ダム周辺は人気キャンプサイトーヒトへの感染症の脅威、近くの畑に設置されたワナ、ニホンザルの往来、新鮮便、餌やり禁止の立て看板)。蠕虫感染の生態学を目的とした調査であるので、こういった踏査は不可欠で、実際、助成頂いた研究費もこの踏査源泉とさせて頂いた。しかし、当日は台風 11 号の最中で、天候

が悪く、危険を伴うもので、必ずしも十分ではなかった。帰任にあたり、この地域の森林も管理する林業試験場でも情報入手を試みた。蠕虫のうち、腸結節虫類について、対応者の岡本教授が分子解析を継続中である。しかし、DNA 抽出が困難なようで、新たな材料入手が必要となっている。また、ウイルス病については、分担者の萩原教授が分析を進めており、2016 年に学会報告予定であるとの連絡を受けた。なお、2015 年は獣医学会で「浅川満彦. 2015. 北限のサルの感染症と保全. 第 158 回日本獣医学会公衆衛生学/野生動物学分会合同シンポジウム「ニホンザルの保全」, 北里大学, 9 月 7 日 (第 158 回日本獣医学会プログラム・講演要旨集, 北里大学, p. 251)」を行い、その報告は 2016 年度、その基盤となる内容は原著論文として刊行の予定である。

B-47 霊長類神経系の解析とヒト疾患解析への応用

井上治久, 沖田圭介, 今村恵子, 近藤孝之, 江浪貴子, 舟山美里, 大貫茉莉 (京都大・iPS 細胞研究所)
所内対応者: 今村公紀

本年度は、霊長類神経系の解析とヒト疾患解析への応用の研究目的にむけて、iPS 細胞の技術開発に取り組んだ。具体的には、STO フィーダーを使用しない培養液が開発されてきたことをうけて、フィーダーを用いて樹立した iPS 細胞がフィーダーフリーに移行できるかどうか、フィーダーフリーでの iPS 細胞樹立、その後の維持培養が iPS 細胞の特性は維持されるのかを、まずヒト iPS 細胞を用いて検討した。

STO フィーダーを使用して樹立した iPS 細胞株を、STO フィーダー上の培養からフィーダーを使用しない培養への移行は以下の手順で行った。CTK 液処理でフィーダーを取り除いた後、ピペッティングで iPS 細胞コロニーをクランプ化、リコンビナントラミニン (iMatrix-511、ニッピ社) でコートをしたプレートに、On フィーダー用途培地 (霊長類 ES/iPS 細胞用培地、リプロセル社) と、フィーダーレス培地 (StemFit AK01 もしくは AK03、味の素社) を 1 : 1 で混合したものを使用し継代した。48 時間後に全量をフィーダーレス培地で置換して移行させた。最終的に全てが、フィーダーレス培養系に移行できた。結果、全ての株が、フィーダーフリー培養系に移行できることを確認した。さらに、ヒトからフィーダーフリーで樹立した iPS 細胞を、複数回継代後、常法により神経系へと分化させた。神経系細胞への分化効率はフィーダーを使用して樹立した iPS 細胞と同等であった。STO フィーダーを使用しない条件での iPS 細胞樹立、その後の維持培養が iPS 細胞の特性は維持されていた。

今後、上記、条件を元に、フィーダーを使用して樹立されたチンパンジー iPS 細胞をフィーダーフリーに移行する。もし、移行ができなかった場合には、フィーダーフリーでの樹立を行う。

B-48 Genomic Evolution of Sulawesi Macaques

Bambang Suryobroto (Bogor Agriculture University) 所内対応者: 今井啓雄

Sulawesi macaques are exceptional as the seven species evolved allopatrically in an island that is less than 5% of the whole coverage area of the genus *Macaca*. The island itself is part of the zoogeographical realm called Wallacea that is highly endemic. There are three issues regarding the evolution of Sulawesi macaques. The first is taxonomic status, the second phylogenetic relationship, and the third hybrid population problem. Recent development in DNA technology (next generation sequencing, NGS) leads to the ability to read the whole genome of an individual. This immense genomic data provide an opportunity to find the most taxonomically informative loci to base the phylogenetic hypotheses and also to observe the gene dynamics of hybrid population. Dr. Yohei Terai (Soken-dai) and I went to Palu in Sulawesi, near the boundary of the distribution of two macaque species, *Macaca tonkeana* and *M. hecki*. We sampled DNA from nine individuals of *M. tonkeana* and ten of *M. hecki*. We constructed genomic DNA libraries from all 19 samples, and subsequently captured the exon sequences using exon capturing kit. The average size of libraries were 550 bp. We will determine the exon sequences from the libraries.

B-49 Greater sensitivity in yellow-blue (YB) color of dichromat monkeys

Kanthi Arum Widayati (Bogor Agricultural University) 所内対応者: 今井啓雄

Macaque monkeys have trichromatic color vision homologous to that in humans. However, through molecular genetic analysis, previous study demonstrated the existence of a dichromatic genotype among the crab-eating macaques. Previous research showed that dichromat monkey could not discriminate colors along the protanopic (colorblind) confusion line, though trichromats could.

Present study aims to study sensitivity in yellow-blue (YB) color and luminance of colorblind monkey and compare it with colorblind-gene carrier and trichromat monkeys. We used several blue and yellow colors with three levels of contrast and six levels of luminance to paint dots arranged to be discernible as a global pattern. Visual stimuli are presented on screens of two iPods, and each was placed on top of a reward hole. Monkeys were trained to choose target from distractors to get the reward by sliding the appropriate device. So far we found that there are no differences between dichromat, trichromat and carrier monkeys in detecting the target. We need to introduce lower contrast stimuli to find the threshold. Now we are doing experiment with additional fund other than kyodoryo.

B-50 Variation of Gene Encoding Receptor of PTC bitter taste compound in Leaf-eating Monkeys

Laurentia Henrieta Permita Sari (Bogor Agricultural University) 所内対応者: 今井啓雄

TAS2R38 is one of *TAS2R* multigene families that encode receptor to recognize bitter from PTC compound. *TAS2R38* had been identified in many primates. *TAS2R38* in human, chimpanzee, Japanese macaques exhibit intra-species polymorphism that lead to different behavioural response of individual. Taster individual show aversion to PTC, in contrast to tolerant in non-taster individuals.

Leaf-eating monkeys (Subfamily Colobines) are unique among primates because their diet mostly consisted of leaves that perceptually tasted bitter to human. Based on behavioral experiment, Chiarelli (1963) found that five individuals of three species of Colobines have non-taster phenotype. Thus, we conducted preliminary behavioral experiments of PTC-tasting on leaf-eating monkeys kept in Ragunan Zoo. The result indicated that nine individuals of genus *Trachypithecus*, *Presbytis* and *Nasalis* were all less sensitive to PTC compared with macaque.

Genomic DNA of leaf-eating monkey was obtained from fecal samples. After DNA extraction, *TAS2R38* gene region was specifically amplified using standard PCR reaction. The result showed that there are some polymorphisms in the *TAS2R38* genes of the monkeys. By calcium imaging methods, we found the cell expressing TAS2R38 receptor of leaf-eating monkeys have lower respond to PTC compared to macaque similar with the behavioral respond of the monkeys against PTC.

B-51 ニホンザル劣位オスの性行動にみられる戦術的欺き

八木創（京都大・院・人類進化論） 所内対応者：半谷吾郎

本研究では嵐山モンキーパークいわたやまのニホンザル餌付け群を対象に、1) 野外においても非 α オスによる交尾隠蔽が戦術的に行われていること、2) 聴覚的隠蔽が行われていること、3) 交尾隠蔽が他者の心的状態を理解して行われていること、を明らかにすることを目的とした。その結果、非 α オスは交尾中、 α オスだけでなく自分より優位なオスから離れることが分かった。しかも、ただ単純に群れから距離を取るのではなく、広さ約 1500 平方メートル程のパーク内において自分より優位なオスとの近接を避けながら交尾していた。また、コンソート中のメスが発情音を発している場合、オスは自分より優位なオスとの近接を避けるために行動を調整していることが示唆された。他者の心的状態を操作したように考えられる事例は 2 事例観察できたが、それらが本当に意図的なものなのかは今後の調査が必要である。調査群として選んだ嵐山 E 群は、放飼場と違い、自由に餌場を離れて遊動ができる環境にある。野生群との違いが、餌という良質で豊富な資源が集中的に存在していることが主だと考えれば、本研究の結果は、野生下と同様の現象を、2 次志向性を有する可能性を示唆する戦術的欺きとして、より鮮やかに示せたものである。

B-53 霊長類生殖細胞における小分子 RNA の解析

塩見春彦, 齋藤都暁, 岩崎由香, 山中総一郎, 蓮輪英毅, 櫻井みなみ（慶応義塾大・医学） 所内対応者：今村公紀

我々の研究室では、マーモセット PIWI タンパク質の一つである PIWIL3 (MARW3) が卵巣で発現することを見出した。マウスには存在しない PIWI である PIWIL3 に対する抗体を用い、マーモセットを用いて発現解析を行った。その結果、PIWIL3 は精巣では発現がみられない一方で、卵巣における卵胞形成後の卵細胞（原始卵胞、一次・二次卵胞及び胞状卵胞）において発現することを明らかにした。また、コモン・マーモセットの卵巣において PIWIL3 に結合する piRNA の単離を試みた。しかし、抗 PIWIL3 抗体による免疫沈降法では PIWIL3 結合 piRNA を得ることができなかった。これは卵巣全体における PIWIL3 発現細胞の量が極めて限られているためであると考えられる。さらに、コモン・マーモセット卵巣由来の piRNA の同定を全小分子 RNA (15-40 塩基長分画) を用いて進めてが、現在のところ検出できない。これは出発材料、つまり、コモン・マーモセットの卵巣の量が少なすぎるためであると考えている。

B-54 霊長類におけるマラリア感染関連遺伝子の分子進化的解析

大橋順, 中伊津美, 安河内彦輝（東京大・理） 所内対応者：今井啓雄

熱帯熱マラリア原虫 (*P. falciparum*) は、自身の EBA175 分子をリガンド、ヒトの GYPA 分子をレセプターとして利用し赤血球へ侵入する。ヒトとチンパンジーの GYPA 分子のアミノ酸配列を比較すると、12 個の連続するアミノ酸の挿入欠失置換（チンパンジーで挿入、ヒトでは欠失）がみられる。この部位がヒトに感染する熱帯熱マラリアとチンパンジーに感染するマラリア (*P. reichenowi*) の宿主特異性に影響しているとする、GYPA 遺伝子には強い正の自然選択が作用してきた可能性が考えられる。現在、マラリア患者 16 名と西チンパンジー 3 匹について、GYPA 遺伝子の全コード領域の塩基配列決定を試みている。配列がデータが得られれば、多型サイトと固定サイトの同義置換数と非同義置換数とを比較する (McDonald-Kreitman 検定) 予定である。

B-55 野生オランウータンの繁殖生理と栄養状態に関する生理学的研究

久世濃子（科博・人類） 所内対応者：木下こづえ

大型類人猿の一種、オランウータン (*Pongo sp.*) がどのような栄養状態で発情・妊娠しているのかを明らかにすることを目的に、尿中のホルモン代謝産物濃度を測定した。2009~2014 年に、マレーシア国サバ州ダナムバレイ森林保護区（ボルネオ島）で採取し、冷凍保存したオランウータンの尿サンプル（雌 7 頭・雄 2 頭から採取した計 41 サンプル）中のインスリン分泌能指標物質 (C-Peptide) について、エンザイムイムノアッセイ法 (Mercodia 社製 Ultrasensitive C-Peptide ELISA キット) を用いて測定した。測定の結果、非授乳中の雌で C-Peptide が最も高く（平均 2.94 pmol/Crmg、N=8）授乳中（平均 0.56pmol/Crmg、N=20）や妊娠中（平均 0.35pmol/Crmg、N=11）の雌では低い、という結果が得られた。また雄の測定値は 21.30 pmol/Crmg と 0.32pmol/Crmg であった。C-Peptide は個体の栄養状態を反映し、栄養状態が良いと高値となる。従って（非妊娠・非授乳で）発情している可能性のある雌は、妊娠や授乳によって栄養的に負荷がかかっている雌よりも、栄養状態が良いことが確かめられた。

B-56 遺伝情報によるニホンザル地域個体群の抽出と保全単位の検討

森光由樹（兵庫県立大・自然・環境研/森林動物研究センター） 所内対応者：川本芳

ニホンザルの分布は、連続分布している地域、モザイク状分布している地域、連続分布から著しく孤立している地域と様々である。特に孤立している地域個体群は、遺伝的多様性の消失及び絶滅が危惧される地域個体群である。地域個体群の保全にむけて、早急な遺伝情報の収集が必要である。そこで報告者は、兵庫県内で孤立している地域個体群、篠山地域個体群（18 個体）および大河内・生野地域個体群（13 個体）の血液サンプル及び皮膚 DNA サンプルを用いて常染色体マイクロサテライト計 16 座位

(D19S582,D3S1768,D1S548,D6S493,D4S2365,D13S765,D18S537,D20S484,D7S821,D10S611,D14S306,D8S1106,D12S375,D15S644,D5S1457,D17S1290)について分析を進めた。フラグメント分析で、個体のマイクロサテライト領域の遺伝子型を判定

した。地域個体群のヘテロ接合率を求め多様性の違いを比較した。平均ヘテロ接合率の期待値 H_e と観察値 H_o では、篠山地域個体群は、 $H_e=0.698$, $H_o=0.732$ であった。大河内群は $H_e=0.713$, $H_o=0.762$ であった。今後は、サンプル数を増やし、兵庫県北部の絶滅危惧個体群、および佐用船越山個体群の分析を進める。また、糞 DNA の分析方法についても開発を行う予定でいる。

B-57 ニホンザル二足歩行運動の生体力学的解析

荻原直道（慶應義塾大・理工・機械工）、大石元治（日本獣医生命科学大・獣医解剖学） 所内対応者：平崎鋭矢

生得的に四足歩行するニホンザルの二足歩行運動のメカニクスを、ヒトのそれと対比的に明らかにすることは、ヒトの二足歩行の起源と進化を明らかにする上で重要な示唆を提供する。本研究では、ニホンザルの二足歩行運動の床反力と脚のスティフネスに着目し、その移動様式の力学原理を再検証することを目的とした。

ニホンザル二頭を実験室内の歩行路の上を歩行させ、歩行路に設置した床反力計を用いてニホンザル 2 頭の二足歩行中の床反力を計測した。このとき歩行中の身体運動を計 4 台のビデオカメラで撮影し、関節点をフレーム毎にデジタル化した。その結果より歩行中の重心点の時間変化を求め、位置・運動エネルギーを算出した。また、その点と着力点を結ぶ脚軸の長さ変化と床反力データから、脚のスティフネス（脚の弾性特性）を算出した。脚スティフネスを体質量と脚長を用いて無次元化を行い、ヒトの二足歩行・走行時の脚スティフネスを比較した。その結果、ヒトの走行時よりもニホンザルの二足歩行の脚スティフネスは小さいことが明らかとなり、ニホンザルの二足歩行は両脚支持期があるにもかかわらず力学的には走行、すなわち *grounded running* となっていることが明らかとなった。また、ニホンザル屍体標本から、歩行に關係する主要な筋の速筋線維と遅筋線維の割合を組織学的手法によって計測する準備を行った。

B-58 霊長類における絶滅危惧種の保全技術の確立

佐々木えりか、田中真佐恵（（公財）実験動物中央研究所・応用発生学研究センター）、井上貴史、平川玲子、高橋司、岡原則夫（（公財）実験動物中央研究所・マーマセツト研究部） 所内対応者：中村克樹

米国では絶滅危惧種のゴールデンライオンタマリン(*Leontopithecus rosalia*)の保全を目的に、米国内の動物園の動物を交換し、近交化を防ぎつつ個体数を増加させて野生に戻す取り組みが一定の成果を挙げているが、動物個体の移送、飼育環境の変化は、動物に大きなストレスを与える原因となる。本研究では、京都大学霊長類研究所において飼育されているワタボウシタマリンにコモンマーマセツト(*Callithrix jacchus*)で開発された非侵襲的受精卵採取をはじめとする発生工学技術を応用することで、他の絶滅危惧種の霊長類の遺伝資源保全が可能かを検討する。

前年度は、プロゲステロンの血中濃度を測定することで、性周期の把握が可能となった。そこで平成 27 年度は、ワタボウシタマリンを雄雌ペアで飼育を行い、血中プロゲステロン濃度から排卵日を予測し、排卵日予測日から約 10 日後に非侵襲的受精卵採取を 3 回行った。その結果、コモンマーマセツトの受精卵を採取する際に用いる器具類は、ワタボウシタマリンの受精卵採卵に適応可能であること、前麻酔にメドミジン、ミダゾラム、ブトルファノールの三種混合麻酔、麻酔維持にセボフルラン吸入麻酔を用いたが、麻酔覚醒に時間がかかるため更なる検討を要することが明かとなった。本方法により、ワタボウシタマリン脱出胚盤胞期の受精卵採卵 1 個を得る事に成功した。

B-59 マカク属の月経周期における卵巣動態の解明と人工授精技術の開発

柳川洋二郎、永野昌志、菅野智裕、杉本幸介(北大・獣医)、高江洲昇（札幌円山動物園） 所内対応者：岡本宗裕

マカク属において凍結精液を用いた人工授精(AI)による妊娠率は低く、特にニホンザルでは産子獲得例がない。そのため、精液の凍結保存法改善とともに、メスの卵巣動態を把握したうえでAIプログラムの開発が必要である。

ニホンザル、オス4頭から精液を採取しTes-Tris Egg-yolk液を基礎としてストロー法とペレット法で凍結した。凍結融解後の精子運動性指数はストロー法では 1.1 ± 0.7 であったのに対し、ペレット法では 10.9 ± 4.6 と有意に高かった。また、ペレット法で凍結した精液においては融解3時間後においても高活力精子を確認することができた。蛍光染色により精子性状を評価したところ、融解直後に先体に損傷がある精子の割合がストロー法ではペレット法よりも高かった($52.5 \pm 15.0\%$ 対 $19.4 \pm 6.8\%$)。

一方、経産メス1頭においてのべ2回、月経後7日目および8日目に新鮮精液を用いたAIを実施した。AI時の卵胞直径はそれぞれ6.2mm、7.7mmであり、 $100 \mu\text{g}$ の性腺刺激ホルモン放出ホルモンを投与することで排卵したが妊娠には至らなかった。AI実施が内因性エストロゲン濃度上昇前であったため、卵子の成熟が不完全であったと考えられた。

さらに色盲の遺伝子を有するカニクイザル、オス4頭より精液を採取、凍結保存しその遺伝資源の保存を行った。

B-60 霊長類のゲノム - トランスクリプトーム・エピゲノム研究

郷康広（自然科学研究機構・新分野創成センター） 所内対応者：大石高生

平成 28 年度は 693 個体のマカクザル、369 個体のマーマセツトの血液から調整した DNA を用いて、ヒトの精神・神経疾患関連遺伝子（約 500 遺伝子）と相同遺伝子の全エキソン領域の配列決定を行い、マカクザル・マーマセツト集団において、稀な機能喪失型変異（Loss-of-Functional mutation）を保有する個体の同定を行った。その結果、精神・神経疾患との関連が強く示唆される 57 遺伝子（マカクザル）、10 遺伝子（マーマセツト）に稀な(5%以下)機能喪失型変異を同定した。また、マカクザル類の発達における脳内発現動態解析を行うために、1 日齢から 1 歳までのマカクザル脳 12 領域を対象とした発達脳発現解析を行った結果、皮質、線条体、視床、黒質、海馬、小脳が明瞭なクラスターを形成することが分かった。さらに、GAIN により類人猿の脳試料の提供を受け、ヒトと主にチンパンジーにおける脳内発現動態を解析した結果、マカクザ

ルの解析で得られた結果と同様に、大脳と小脳でクラスターを形成することが分かったと同時に、ヒトとチンパンジーの種間でも明瞭なクラスターが形成されることを明らかにした。

B-61 ニホンザルのアメーバ感染に関する疫学研究

橘裕司（東海大・医）、小林正規（慶応大・医） 所内対応者：岡本宗裕

近年、赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）と形態的には鑑別できない新種のアメーバ（*E. nuttalli*）がサル類から見つかる。本研究の目的は、ニホンザルにおける腸管寄生アメーバの感染実態を明らかにすることである。今年度は、岡山県真庭市に生息する野生ニホンザルの糞便 27 検体について解析した。糞便から DNA を抽出し、赤痢アメーバ、*E. dispar*、*E. nuttalli*、*E. chattoni*、大腸アメーバ（*E. coli*）、*E. moshkovskii* について、PCR 法による検出を試みた。その結果、*E. chattoni* が 25 検体（93%）、大腸アメーバが 21 検体（78%）において陽性であった。また、*E. nuttalli* も 20 検体（74%）が陽性であった。赤痢アメーバ、*E. dispar*、*E. moshkovskii* は検出されなかった。これまでの他地域における調査でも、*E. chattoni* 感染は高率に認められ、赤痢アメーバは検出されていない。一方で、*E. dispar*、*E. nuttalli*、大腸アメーバの感染の有無については地域差がある。今回初めて、中国地方以西の野生ニホンザルにおいて *E. nuttalli* 感染が確認された。

B-62 ニホンザル脊髄神経後枝の形態的特徴

時田幸之輔（埼玉医大・保健） 所内対応者：平崎鋭矢

神経後枝の分布領域である背部は本質的に最初に形成された体幹の最も古い部分であるとされており、種や部位による分化の違いが少なく、一様な分節的構成を持つとされている（山田）。今回、ニホンザル液浸標本を対象として、頸・胸・腰神経後枝内側枝の起始、経路、分布を固有背筋との位置関係に注意して詳細に観察を行った。

ニホンザル頸神経後枝内側枝（C2～C4）は頭半棘筋と頸半棘筋の間を走行し、頭板状筋正中起始部の筋束への筋枝も持っていた。ニホンザル頭板状筋は、ヒト頭板状筋に比べ正中起始が高く、停止部の幅も広い。脊髄神経後枝内側枝からの枝が、筋の裏側から、頭板状筋正中起始部の筋束へ分布していた。

ニホンザル胸・腰神経後枝内側枝の形態は大きく 2 つに分類できた。①内側皮枝を持つもの（Th1-Th7）、②内側皮枝を持たないもの。さらに②については、a:筋構成が胸部の様式であるもの（Th8-Th9）、b:胸腰部移行領域（Th10-Th11）、c:筋構成が腰部の様式であるもの（Th12 以下）の 3 つに細分化できた。それぞれの走行経路は①:皮枝・筋枝共に横突棘筋群の第 1 層（半棘筋）と第 2 層（多裂筋）の間を走行する。②-a:①と同じく半棘筋と多裂筋の間を走行。②-b:横突棘筋群の第 2 層（多裂筋）とさらに深層の回旋筋の間を走行。②-c:回旋筋の深層を走行。

佐藤（1973）はヒトの胸部と腰部では後枝内側枝の走行様式が異なるとしている。布施（2014）は、ヒトにおいて、下位分節の胸神経に、胸神経と腰神経との移行型と言える走行経路をとる神経が存在することを指摘している。ニホンザル及びヒトにおける腰神経後枝内側枝の特異化は、狭鼻猿類または霊長類に特有な形態ではないかと推察している。

これらの成果は、第 31 回日本霊長類学会大会、コ・メディカル形態機能学会 第 14 回学術集会、第 121 回日本解剖学会総会・全国学術集会にて発表した。

B-63 霊長類におけるオトガイ部の骨格と支配神経の分布様式に関する研究

岩永謙、山本宏一、嵯峨堅、渡部功一、田平陽子（久留米大学医学部 解剖学講座肉眼・臨床解剖部門）

所内対応者：平崎鋭矢

われわれはヒト下顎骨において、副オトガイ孔の大きさや位置と副オトガイ神経が分布する領域の関連を明らかにした（Iwanaga et al. (2015) *Clinical Anatomy*）。2015 年度の共同利用研究では、下顎骨の形態がヒトと異なるカニクイザルを 3D-CT で観察したところ、5 体中 3 体に両側性に副オトガイ孔が存在した。実体顕微鏡下で剖出を行ったところ、5 体中 4 体に副オトガイ孔を見つけ、そこから分布する神経の走行を追った。ヒトと違いカニクイザルのオトガイ孔や副オトガイ孔から出る神経束のうち、一部は後方に向かう太い枝があることが判明した。ヒトよりもオトガイ部の骨格が突出しているため、後方への神経支配が必要だった結果と考えられた。また、最近の研究で、ヒト下顎骨において通常は存在し得ない下顎骨正中の貫通孔が 1 つの個体において見つかった（論文投稿中）が、カニクイザルの 3D-CT 所見では 5 体全例において存在した。通過する構造物は動脈と考えられるが、今後調査を進めることで、カニクイザルとヒトでの下顎骨の発生過程における血管系の関わり合いを解明する糸口になると考えられる。本研究結果は、英文雑誌に投稿予定である。

B-64 霊長類腓腹神経の比較解剖学的研究

関谷伸一（新潟県立看護大） 所内対応者：平崎鋭矢

京大霊長類研究所所蔵のチンパンジー胎児 2 頭、2 側の下肢を用いて、腓腹神経（NS）の起始と足背分布を手術用実体顕微鏡の下で解剖して調べた。

第 1 例（PRI 7993、左）：NS は脛骨神経の外側面からヒラメ筋の筋枝（SoIN）、腓腹筋外側頭の筋枝（LGN）とともに共同幹をなして分岐した。NS は腓腹筋内側頭と外側頭の間を通り、外果上方 1 cm 程の部位で皮下に現れ、外果後方を回って第 5 中足骨外側縁まで達した。その先の第 10 趾縁には浅腓骨神経（NPS）の枝が分布した。

第 2 例（PRI 8507、右）：NS の起始は第 1 例と同じであった。また足背分布もヒトをはじめ他の動物と同じく第 10 趾縁に達していた。

チンパンジー胎児の NS の起始が、いずれも SoIN と LGN と共同幹をなしていたことは、見方を変えれば NS が主幹で SoIN と LGN がその枝であるとも言える。このことは著者が主張してきた NS が上肢の尺骨神経に相同であるという説を裏付ける所見である。また第 1 例の第 10 趾縁分布皮神経が NS ではなく NPS の枝であったことは、チンパンジーにおいては NS の足背分布が縮小傾向にあることを示し、NS が必ずしも第 10 趾縁に分布する絶対的な皮神経ではないことを示

している。

B-65 比較解剖学に基づく体幹-上肢移行領域の形態学的特徴

緑川沙織（埼玉医大・保健・理学） 所内対応者：平崎鋭矢

内側上腕皮神経(Cbm)は、内側神経束の背側より分岐し上腕後面に分布する。Cbm は第 2 肋間神経外側皮枝(Rcl-2)と吻合する為、これらを体幹と上肢の境界領域と考えている。本研究の目的は、Cbm の形態的意義を比較解剖学的に明らかにすることである。

昨年度までに狭鼻下目チンパンジー、ニホンザル、カニクイザル、広鼻下目クモザルの調査を終えており、本年度は広鼻下目リスザル、タマリンを追加借用し調査を行った。

上記の霊長類中、ヒト、チンパンジー、クモザル、リスザルでは Cbm が観察されたが、その他では観察されず、相当する分布域には Rcl-2,3 が分布していた。狭鼻下目と広鼻下目それぞれに Cbm の有無が見られたことから、系統差ではないといえる。ヒト Cbm が Rcl-1 と相同(佐藤)とすると、Cbm 消失は Rcl-2,3 への移行と考えられる。腕神経叢は Rcl 系列の神経が上肢形成に対応し発達を遂げたものと考えられており、Rcl から Cbm への移行とする方が妥当である。ヒト、チンパンジー、クモザルは腕渡りという移動様式をとり肩関節可動域が広い。また、リスザルなど樹上性の強いものも肩関節可動域が広いとされ、これらの種に Cbm が存在していた。よって Cbm は、胸壁から上腕へ分布していた Rcl が、肩関節可動域拡大に伴い腕神経叢として特殊化を遂げたものと考えられた。

B-67 霊長類の種間交雑に関する集団ゲノミクスおよび数理形態解析

伊藤毅、木村亮介(琉球大・医) 所内対応者：川本芳

霊長類のような大型野生動物を対象に大規模な交配実験を行うことは不可能なため、交雑によるゲノムと表現型の進化に関する理解は十分に得られていない。本研究は、マカク種間交雑群にゲノムワイド SNP 解析を適用することで、交雑進行のプロセスを詳細に推定することを目的とした。外来種タイワンザルと在来種ニホンザルの種間交雑群（和歌山群）に由来する約 300 個体を対象に当初の予定通り RAD-Seq 解析を適用し、マーカーの探索とジェノタイプ判定を行った。平行して、対応する個体の骨格標本を対象に、頭蓋形態のノギス計測と CT を用いたデジタルデータの取得を行った。RAD-Seq 解析の結果、9 割以上の個体でジェノタイプデータが得られた SNP は 3000 以上となった。このうち両親種間で分化する約 350 座位 ($\delta > 0.9$) を用いて、各個体の交雑指数と種間ヘテロ接合率を算出した。これら 2 変数の分布は、和歌山群に雑種第 1 代、複数代、戻し交雑個体が混在することを示唆した。今後、シーケンスデータを追加してジェノタイプを拡充させると共に、座位特異的な遺伝子型の偏りやゲノムの混合パターンと形態変異との関連について調べていく予定である。

B-68 遺伝子分析を利用したワオキツネザルの父系判定の研究

廣川百恵、中尾汐莉、新宅勇太、田中ちぐさ(JMC) 所内対応者：川本芳

本年度は、精度の向上と分析法の簡略化を目的として、Lc5, Lc6, 69HDZ035, 69HDZ091, 69HDZ208 に加え、Lc7, Lc9, Lc10, 69HDZ225, 69HDZ232 の 5 マーカーについて新たにテストを行った。

Lc7, Lc9, Lc10 については、この 3 マーカーを混合する 2 段階の MultiPlexPCR で分析した。しかし、Lc7, Lc10 についてこの手法を用いると、結果の安定性に不安が示唆されたため、マーカーごとに解析する方法を採用した。

69HDZ225, 69HDZ232 の 2 つのマーカーについては、今まで使用してきた HDZ のマーカーについてシグナルが弱く解析ができなかったマーカーもあり、1 度 PCR 増幅させた産物を解析したデータと、その産物にもう一度 KOD-FX の酵素を加え PCR 増幅させ解析したデータと比較した。その結果、この 2 マーカーについては、1 回の増幅で十分解析が可能なシグナル強度を得られた。

5 種類のマーカーの結果からソフトウェア GenAlex6.5 で計算したところ、一般父権否定確率は 0.967 だが、以前より安定した解析結果を得られる Lc5, Lc6, Lc8 を加え再計算したところ 0.999 となった。この 8 種類のマーカーを利用すれば、より高い精度でワオキツネザルの父親判定が進められると考えられる。現在はこれらのマーカーを利用し、データの解析を進めている。

B-70 霊長類の顔面軟部組織の支持組織の研究

渡部功一、山本宏一、嵯峨堅、田平陽子、岩永譲（久留米大学解剖学） 所内対応者：平崎鋭矢

カニクイザル屍体 5 体の頭部に対して肉眼解剖学的剖出および組織学的な研究を行い、ヒトとの比較を行った。頬部から側頭部において、浅層の筋膜（ヒトでいう SMAS 層）と深層の筋膜（側頭筋膜、咬筋筋膜）の間に数か所強く癒着する部位が観察された。側頭部では頬骨弓の直上、頬部では咬筋筋膜上に 3 か所程度観察された。これらの部位には全て顔面神経の末梢の枝が存在していた。また、咬筋前方では浅層の結合組織が下顎枝に強く癒着するように深層に向かって走行しており、ヒトではこの部位で通常観察される頬脂肪体はほとんど観察されなかった。これらの事より、ヒトに存在する顔面軟部組織を支持すると考えられている retaining ligament はサルにおいても存在していると考えられるが、その役割は顔面神経を物理的外力から保護する役割が強いと考えられた。ヒトにおいても顔面神経の枝が中を走行している retaining ligament が存在しており、これらの ligament は元来顔面神経を保護するものであったと考察された。また、咬筋前面の癒着部位はヒトではサル程はつきりはないが類似の構造が存在しており、下顎枝の幅や脂肪組織の量の違いなどによる影響でヒトでは退縮したのではないかと考えられた。

B-72 網膜神経細胞のサブタイプ形成を担う分子群の霊長類における発現パターンの解析

大西暁士（理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・網膜再生医療研究開発プロジェクト）

所内対応者：今井啓雄

ヒトを含む多くの霊長類の多くは赤・緑・青色感受性の錐体視細胞に起因する3色性色覚を持つが、これら錐体視細胞のサブタイプを決定するための分子機構は不明な点が多い。マウス網膜において青・緑錐体視細胞サブタイプ決定を担う転写制御因子 *Pias3* の発現調節に関与する因子として1型レチノアルデヒド脱水素酵素を同定した。同酵素は、*Pias3* 発現に関与するレチノイン酸受容体である *RXRgamma* のリガンドであるレチノイン酸を合成する。

マウス網膜における上記遺伝子の LOF 解析において錐体視細胞サブタイプに有意な表現型が認められなかった。そこで、機能を相補する分子の探索を行ったところ、マウス網膜においてチトクローム P450 のサブタイプが1型レチノアルデヒド脱水素酵素と発現パターンが重なる事が分かった。培養細胞系において *RXRgamma* の活性化能を測定したところ、マウス型に比べ霊長類型の酵素が高い活性化能を示した。即ち、霊長類型のチトクローム P450 分子はマウス型に比べて錐体視細胞サブタイプの分化に寄与する事が示唆された。

B-73 マダガスカル産希少原塩類の遺伝子判定による血統管理法の確立

宗近功 (一般財団法人進化生物学研究所・資源動物) 所内対応者：田中洋之

本年は日本動物園水族館協会種保存拡大会議が熊本で開催され、血統登録に遺伝子データの導入の必要性を説き、了解された。クロキツネザルの残りの個体のサンプリングは種保存会議の登録担当者に協力してもらえるととなった。しかし、収集期間が短く、間に合ったのが伊豆サボテン公園と甲府市動物園の2施設にとどまり、クロキツネザル7個体(伊豆サボテン公園♂3♀3, 甲府市動物園♀1)、クロシロエリマキキツネザルは3個体(甲府市動物園♂1♀1とその間の子供1)であった。

マイクロサテライト遺伝子座位の増幅はマルチプレックス法でおこなった。この際、高性能酵素(KODO FX:TOYOBO)を使うとアニーリング温度の異なる4遺伝子座位を同時に同一温度で増幅することが可能であった。これは非常に効率的で、今後はこの手法を用いれば時間と経費の削減ができる。

国内に飼育されている個体群の遺伝的評価は全個体のマイクロサテライト解析が終了後実施する予定であるが、今回の7個体のクロキツネザルはマイクロサテライト10座位を正常に増幅でき、血統登録検討資料として加えた。また、クロシロエリマキキツネザルの3個体の血縁関係は台帳記録と同じ結果を示した。

B-74 嵐山 E 群ニホンザルにおける血縁認識について

横山慧 (京都大・院理・人類進化論) 所内対応者：半谷吾郎

霊長類では、母系血縁者間で親和的行動を行うことが多く、コドモの頃の親密さに基づいて血縁者を識別していると考えられているが、父系血縁者を識別するメカニズムについてはよく分かっていない。

本研究は、嵐山ニホンザル餌付け集団のほぼ全個体に当たる110頭についてDNA解析を試みるとともに0-2歳のメスの行動観察を通じて、親和的行動の多寡と関係している要因を調査し、父系血縁者の識別メカニズムを探ることを目的に行われた。

3歳未満の個体との関係において、非血縁者に比べ母系血縁者、父系姉妹と、また年齢の近い個体との近接率、および遊びの生起確率が有意に高かった。3歳以上の個体との関係において、非血縁者に比べ母親と母系血縁者、父親との近接率、およびグルーミングの生起確率は有意に高かったが、父系姉妹との間には有意な差は認められなかった。

以上のことから、父系血縁者の識別メカニズムについても母系血縁者と同様、コドモの頃の親和的な関係が効いていると示唆された。しかし嵐山集団においては雌雄間の特異的近接関係が知られているため、コドモの頃に母親を介して父子が、父親を介して父系キョウダイ同士が親密になることによって、一部の父系血縁者を識別しているかもしれない。

B-75 サルエイズモデルにおける中和抗体の誘導過程の解明

桑田岳夫 (熊本大・エイズ学研究センター)、俣野哲朗(感染症研・エイズ研究センター)、三浦智行(京都大・ウィルス研) 所内対応者：明里宏文

近年、サブタイプを超えた多くの HIV-1 株に有効な中和抗体として、BNAbs (broadly-reactive neutralizing antibody) が HIV-1 感染患者から分離されてきたが、その誘導メカニズムはよく分かっていない。本研究では新たに SIVsmH635FC 株を接種したアカゲザル6頭から定期的に血液、リンパ節を採取し、中和抗体上昇を確認した感染約1年後に殺処分して、中和抗体の誘導過程を解析するための試料を採取した。

得られた試料から抗体ライブラリを作成し、ファージ・ディスプレイ法により SIV Env 特異的抗体を選別し、SIV 感染12週のサル MM617 より1種類、MM618 から4種類の中和抗体を得た。遺伝子解析の結果、これらの中和抗体は、以前に分離した中和抗体 B404 とは異なる系統であることが示された。一方、SIV 感染サルで誘導されている抗体全体を解析するため、抗体の重鎖遺伝子の次世代シーケンサーによる予備的な解析を行った。今後、経時的な試料を用いて中和抗体の分離と遺伝子解析を進め、HIV-1 感染では解析できていない、感染初期の中和抗体の成熟過程をあきらかにしていきたい。

B-76 ニホンザル群における食物摂取と栄養状態および繁殖成績の関係について：幸島群と高崎山群の比較

栗田博之 (大分市教委・文化財) 所内対応者：濱田穰

これまで報告者は、ニホンザル餌付け個体群である宮崎県串間市の幸島個体群と大分県大分市の高崎山個体群との間で、食物摂取・栄養状態・繁殖成績の関係の比較を行ってきた。これまでにわかったことは、高崎山群では幸島群に比べ、給餌量が多いために体重が重く、出産可能齢が長く、ほぼすべての年齢で出産率が高いこと等である。2015年度については、体重・体長データの追加収集を行うとともに、幸島群における食物摂取に着目した調査を行った。

幸島主群では、原則として週に3日、京都大学野生動物研究センター幸島観察所職員によって砂浜でコムギが投与されているが、それを食べる際、舌で舐め取る行動と指で摘み上げて口に運ぶ行動とを同一個体が織り交ぜることがわかっている（高崎山個体群では、塊状にコムギが落ちている場合を除くほとんどの場合において、指で摘み上げて口に運ぶ方法でコムギを食べる）。そして、コムギ投与開始直後は、相対的に舌で舐め取る行動の生起頻度が高いが、時間経過とともに指で摘み上げて口に運ぶ行動の生起頻度が高くなっていくことがわかった。また、コムギの分布条件を人為的に操作した実験により、コムギが落ちている砂浜の表面の形状やコムギの分布密度によって、2つの行動の生起頻度が異なることがわかった。今後は、採餌行動の種類と採餌速度について2個体群間で比較し、栄養状態の群内順位格差との関係等を明らかにしたい。

B-79 ニホンザルフォーミーウイルスとニホンザルとの共進化の可能性

宮沢孝幸、吉川祐助、下出紗弓、宮穂里江、坂口翔一（京都大学ウイルス研究所）

所内対応者：岡本宗裕

ヒト以外の霊長類は独自のフォーミーウイルス(Foamy Virus:FV)を保有しており、宿主とFVは共進化してきた(Science (2009) 325: 1512)。ニホンザルは我が国で独自に進化してきたマカク属のサルであり、広範な地域に生息し、地域ごとに特色のある集団を形成している。我々はミトコンドリアよりも変位速度が速いFVに着目し、ニホンザルの集団形成過程の解明を試みている。これまでに、京都府嵐山由来のニホンザルならびに鳥取県若桜由来のニホンザルよりFVを分離し、若桜由来のFVの全長配列を決定し系統樹解析した。さらに鹿児島県屋久島に棲息するニホンザル（ヤクシマザル）4頭からFVを分離し、部分遺伝子配列を決定している。本年度は、ヤクザル由来のFVと霊長類研究所が保有しているタイワンザルからFVを分離し、塩基配列を決定し、解析を行った。その結果、ヤクシマザルのFVは本土のニホンザルのFVとは大きく遺伝子配列が異なり、すべてのFV遺伝子領域で、ニホンザルよりもむしろタイワンザルに近かった。この結果は「ヤクシマザルを含めたすべてのニホンザルの起源は朝鮮半島経由で日本に侵入した」というこれまでの通説と異なるものであった。今後は、タイワンザルならびにホンダザル由来のFVの解析数を増やすとともに、常染色体遺伝子のイントロン配列を用いた解析を行う予定である。

B-80 遺伝子解析による三重県内のニホンザルの個体群調査

六波羅聡、鈴木義久（NPO 法人サルどこネット）

所内対応者：川本芳

三重県内のニホンザルは地理的に連続分布しているが、昨年度までにメスと若いオス(群れ出自個体)103個体のミトコンドリアDNA(mtDNA)のD-loop第1可変域の塩基配列の分析により、亀山市周辺を境にした大きく南北2系統の分類と滋賀県で確認されている1系統が確認されていた。また、オス106個体のY-STR検査については、15タイプに分類され同じタイプが県内各地に広域に分布していることが確認されていた。

現存する群れの遺伝的構造をより詳細に把握するため、ミトコンドリアDNA(mtDNA)で大きく分かれた2系統(南北)から各32個体を選び、常染色体のマイクロサテライトDNA変異について16マーカーを用いて分析した。

結果、1世代あたりの移住個体数(Nm)やAMOVAによる分析、Hardy-Weinber testにより、ミトコンドリアDNA(mtDNA)では大きく2系統に分かれた南北間においても、核DNAの交流は頻繁に行われていることが確認された。

今後、ミトコンドリアDNA(mtDNA)のD-loop第1可変域の塩基配列の分析結果・Y-STR検査・常染色体マイクロサテライトDNA変異分析の結果を詳細に検討することにより、三重県内の群れの状況をさらに細かく明らかにしていき、国の法律改正に伴う特定鳥獣保護管理計画の改訂に際し、遺伝的な観点を保護管理計画に反映できるよう、管理単位となる個体群についても検討する予定である。

B-82 霊長類の生体と固定標本を用いた前肢骨格の可動域の種間比較

加賀谷美幸（広島大・医歯薬保・解剖学及び発生生物学）

所内対応者：濱田穰

ポジショナルビヘイビアの異なる霊長類の種間で、前肢帯の立体配置がどのように異なり、この位置変化と前肢の運動がいかに連動しているか明らかにするため、昨年度にひきつづき、接触型三次元デジタイザとCT撮影を併用した計測を行った。獣医師の協力のもと、ニホンザル、ヒヒ、オマキザルの生体を対象として、麻酔下に前肢の肢位を変えて前肢や前肢骨格の位置を示す座標を取得し、CTデータから抽出した骨格形状を重ね合わせ、骨格の位置関係を復元した。また、大型類人猿情報ネットワーク(GAIN)により導入されたテナガザル冷凍標本1個体（左側の開胸部を縫合し、右側で計測）と、マカク個体のThiel法固定標本の計測を行った。胸郭背腹軸に対する肩甲骨位置の指標として、肩甲骨棘内側端-関節窩中心ラインのなす角を比べると、腕の挙上に従い角度が増し肩甲骨が背側に移動する傾向はどの種も共通していたが、ヒヒでは33度までの値、クモザルやテナガザルはこれより大きくおよそ90度までの値、ニホンザルやオマキザルは両者の中間で推移することが分かり、樹上性が強い種ほど肩甲骨の背側化傾向が強いことが明らかとなった。

B-83 複合ワクチネーションによるSIVの感染防御効果の解析

三浦智行（京都大・ウイルス研）

所内対応者：明里宏文

京都大学霊長類研究所のアカゲザル11頭の血液を提供して頂き、当研究室のP3実験室内で比重遠心法により単核細胞を分離した。そこから適切な培養方法を用いることにより、リンパ球やマクロファージの培養系にもってゆき、ワクチン評価のための攻撃接種用ウイルスSIV及びSHIVを感染させた。感染後、培養上清中のウイルスRNA量、逆転写酵素活性、感染力価や感染細胞中のウイルス抗原、アポトーシスマーカーあるいは細胞の生存率等を調べることにより、それぞれのアカゲザルにおけるウイルスの感染性、増殖能、細胞障害活性などの性状を明らかにした。また、それぞれの血液からメッセンジャーRNAを抽出し、逆転写酵素反応によりcDNAを調整した。このcDNA試料を用いてMHC遺伝子のバックグラウンドを調べることによって、これまでに報告されているウイルス抵抗性のMHC遺伝子を保有しているかどうか

かを個々のアカゲザルについて明らかにした。このようにして得られた基礎情報をもとに、ウイルス研究所のサル感染実験施設でエイズワクチン評価のためのウイルス感染実験を行うために6頭のアカゲザルを11頭の中から選定した。また、当研究施設で既に先行して行っている感染実験サルからのウイルスの再分離や、その *in vitro* での性状解析も提供して頂いた血液を用いて行った。

B-84 哺乳類の寛骨と脊柱(椎骨)の形態と移動運動

和田直己(山口大・共同獣医), 松尾大貴(山口大・農) 所内対応者: 西村剛

- 1、肩甲骨の外形と動物種、体重、生息域を反映するロコモーションとの関係を明らかにした (slide1~12)。
実測値は計測項目の多くが体重に相関していた。
形状を示す計測値の比率は動物種に強い相関を示した。
しかし、生息域 (ロコモーション) により異なる動物種 (目) 間の類似が観察された。
- 2、肩甲骨に付着す棘上、棘下筋と動物種、体重、との関係を示した (slide 13)。
筋重量と体重との相関を確認した。棘上、棘下筋比は動物種を反映する。
- 3、チンパンジー、オランウータン、マントヒヒの特に腹鋸筋の作用による応力分布の違いを示した (slide 14~15)。
有限要素法を用いた。この研究は断面形状に関するものである。

今後

応力分布については現在、霊長目を中心に7種のデータが得られた。現在、さらに3種研究中である。すべてが出そろって論文化を行う。

B-85 霊長類の光感覚システムに関わるタンパク質の解析

小島大輔, 鳥居雅樹 (東京大・院理・生物科学) 所内対応者: 今井啓雄

脊椎動物において、視物質とは似て非なる光受容蛋白質 (非視覚型オプシン) が数多く同定されている。私共は、マウスやヒトの非視覚型オプシン OPN5 が UV 感受性の光受容蛋白質であることを見出し (Kojima *et al.*, 2011)、従来 UV 光受容能がないとされていた霊長類にも、UV 感受性の光シグナル経路が存在するという仮説を提唱した。そこで本研究では、OPN5 を介した光受容が霊長類においてどのような生理的役割を担うのかを推定するため、霊長類における OPN5 の発現パターンや分子機能を解析している。これまでのニホンザル組織試料を用いた解析から、ニホンザル OPN5 遺伝子には哺乳類以外の OPN5 遺伝子には見られないエクソンが存在することが明らかになっている。そこで本年度はニホンザル・アカゲザル・マーモセット由来の各組織において、このエクソンを含む新奇転写産物を定量し、これまで同定されていた通常型 OPN5 転写産物と比較した。その結果、これらの転写産物の量比が組織によって異なることを見出した。この新たな OPN5 転写産物の機能や存在意義に着目して今後も研究を進めたい。

B-86 オランウータンにおける胸郭の形態学的研究

大石元治 (日本獣医生命科学大・獣医解剖学), 荻原直道 (慶應大・理工), 小藪大輔 (東京大・博物館)
所内対応者: 江木直子

類人猿の胸郭は横に広がった形状をもち、肩甲骨が胸郭の背側面において側方から上方に回転することができる。この運動は類人猿に認められる懸垂運動と密接に関係しているが、類人猿間で特徴的な懸垂運動の種類や出現頻度に大きな違いが認められ、胸郭の形状にも影響を与えると考えられる。懸垂運動はヒトと大型類人猿の共通祖先のロコモーションを考察する上でも重要であり、懸垂運動への適応的形質を明らかにすることは人類進化を理解するために有用な情報となる。しかし、大型類人猿における胸郭の形状に関する種間差についてはほとんど報告されていない。そこで、本研究では大型類人猿のなかでも懸垂運動を多用することで知られているオランウータン (1 個体) の胸郭の CT 撮影を行い、三次元再構築を行うことで、胸郭の形状を観察した。Schultz (1950) の報告にあるチンパンジーとテナガザルの胸郭と比較すると、オランウータンはテナガザルと類似しているように思われた。すなわち、オランウータンの胸郭の頭側部がチンパンジーに比べて幅が広い傾向が認められた。今後は標本数を増やすとともに、他の大型類人猿との定量的な比較が必要である。

B-87 DNA analysis of wild rhesus macaques in Southern China

Zhang Peng, Chengfeng Wu, Yuanmengran Chu (Sun Yat-sen University) 所内対応者: 今井啓雄

I and my student Miss Xiaochan Yan cooperated with Dr. Imai Hiroo, Primate Research Institute of Kyoto University. Based on amplifying, sequencing and other molecular techniques, we successfully selected a set of microsatellite loci for the study group, and we found it was high homology among Rhesus macaque in Neilingding Island. As a result, we successfully selected 4 high polymorphism microsatellite locus of 10 candidate locus to establishing kinship network and compared to affiliative behavior network. We found it was significant correlation between kinship network and affiliative behavior network, which supported to kin selection theory. The result also suggests that with amplification several times, fecal sample is a suitable DNA source for wildlife genetic research. In 22 Nov, 2015, we invited Prof. Matsuzawa Tetsuro to visit my lab in Sun Yat-sen university, China, he gave an impressive lecture to students. From March 3-6, I attended the 5th International Symposium at Primatology and Wildlife Science in Inuyama. I thanks Dr. Imai and his colleagues at PRI for their great advice and helps, and hope to have more chances for such cooperation.

B-88 屋久島における動物の果実食と種子の二次散布の関係

松原幹 (中京大・国際教養) 所内対応者: 辻大和

ヤクシカやげっ歯類などが、ニホンザルが糞散布した種子の生存率におよぼす影響を調べるため、2015 年 10~12 月に、

屋久島西部地域のニホンザルの糞中種子に集まる生物を、自動撮影カメラで調べた。新鮮なサル糞を採集し、糞から直径3mm以上の種子を取り除いた後、着色した種子（カラスザンショウ、ハゼノキ、モッコク、シラタマカズラ）を各糞につき1種ずつ、100個を混ぜた。鉄製の覆い（シカ除けカゴ、小動物除けカゴ、センチコガネ類除けカゴ）を被せたサル糞や、カゴなしのサル糞、果皮を除き着色した種子、無着色種子を、林内の実験区に設置し、3日後、1週間後、1ヶ月後に実験区内に残った種子数を比較した。自動撮影カメラは1ヶ月間設置した。糞設置から24時間以内に、ヤクシカが訪れてサル糞を食べる行動が、カメラトラップ場所の90%以上で確認された。植物種による違いは確認されなかった。サル糞に混ぜ込まなかった種子の半数以上は、1ヶ月後、実験区域内で再発見された。このことから、この地域のサルによって糞散布される種子は、サル糞というシカ誘引物質の付着により、シカ被食率が増加すると推測された。

B-89 東京都、埼玉県、山梨県のニホンザル地域個体群の遺伝的解析

井口基、小林和弘、小林綾（東京の野生ニホンザル観察会） 所内対応者：川本芳

平成27年度の研究では、新たに共同利用研究に参加した小林らが糞試料の分析方法を習得し、井口が調査地で採取した糞試料とともに東京都、埼玉県、山梨県に生息するニホンザルがもつミトコンドリアDNA（mtDNA）のタイピングを進めた。小林らが採取した秩父市の糞試料では、非コード領域のほぼ全域の配列が解読でき、既知のmtDNAハプロタイプと照合できた。この結果、以前に同所で井口が発見していたタイプと同じであることが判定でき、方法の再現性が確認できた。この技術習得により今後さらに調査が広げられる見込みがたつた。一方、井口が採取した糞試料82検体についてもmtDNAのタイピングを行い、74検体のタイプが決定できた。従来のデータと比較した結果、これらの中には調査地域外から移入したと考えられる個体が含まれていた。また、井口が確認していたオスグループの構成個体の出自について、mtDNAハプロタイプの母系特異性を地図にプロットし、オスグループのメンバーのもつタイプと比較する作業を開始した。東京都、埼玉県、山梨県のサルに関し、母系で推定する出自来歴の検討が可能になりつつある。

B-90 野生ニホンザルの個体数抑制技術の開発

前多敬一郎（東大・院・農学生命）、東村博子、大蔵聡、上野山賀久、渡辺雄貴、末富祐太（名大・院・生命農）

所内対応者：鈴木樹理

本研究は、平成25年に採択された農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業シーズ創出ステージ「新規な繁殖中枢制御剤開発による家畜繁殖技術と野生害獣個体抑制技術の革新」の一環として、Neurokinin B受容体（NK3R）拮抗剤を用いた新たな野生ニホンザルの個体数抑制技術の開発の基盤となる知見を得ることを目的とした。ニホンザル雄3頭を用いて、繁殖（交尾）期にNK3R拮抗剤（SB223412）をバナナに充填し、20あるいは40mg/kgになるように単回あるいは複数回経口投与した。薬剤投与直前に1回、薬剤投与の3、6、12、24、36、48および60時間後に上腕静脈から採血を行い、LC-MSにより血中SB223412濃度を、酵素免疫測定法により血中テストステロン濃度を測定した。その結果、複数回投与により、血中SB223412濃度を実験期間中、高い値で維持することに成功し、これらの個体の血中テストステロン濃度は、プラセボ投与対照群に比較して、有意に低い値となった。このことからNK3受容体拮抗剤の経口投与は、雄ニホンザルにおいて性腺機能抑制効果を持つことが示唆された。

B-91 サル免疫細胞を体内に持つマウス作製の試み

伊吹謙太郎、藤田悠平（京大・院・医） 所内対応者：明里宏文

昨年度に引き続き、サル胎盤由来造血幹細胞（幹細胞）のサル化マウス作製への有用性検討のため、アカゲザル、ニホンザルの胎盤組織に含まれる細胞群についてフローサイトメトリーにより解析し、幹細胞を含む胎盤細胞のNOGマウスへの移植によりサル化マウス作製を試みた。我々は胎盤内にCD34、HLA-DR発現陽性でCD45、CD3、CD14発現陰性、かつ細胞密度の小さな多能性幹細胞を示唆する細胞群が $3.6 \pm 0.6\%$ 存在していること見出しており、本年度も分与された胎盤からこの細胞群を分取した。また、昨年度は幹細胞を移植したNOGマウスが移植後1週を経ずに死亡し、この原因が採取、輸送および分離時の細菌等増殖による胎盤汚染と考え、輸送方法の変更および抗生物質含有培地での洗浄回数増加等分離方法の改良を行った。本年度はアカゲザル4頭、ニホンザル2頭の計6頭の胎盤を分与いただき、そのうちのアカゲザル2頭、ニホンザル1頭分の胎盤においてサル多能性幹細胞の分離を行った。NOGマウス3頭に胎盤より分離した幹細胞と考えられる細胞群を移植したが、観察期間を通してマウス末梢血中にサル免疫細胞は認められず、胎盤の多能性幹細胞がマウスに生着しサル免疫細胞として分化できるのかは明らかにできなかった。

B-92 霊長類の嗅覚・フェロモン受容体の多様性と進化

東原和成、松井淳（東大・院・農学生命科学） 所内対応者：今井啓雄

日常生活において、香りは生活の質を高める重要な要素のひとつとなっている。そして、多々ある香りの成分の中でも、ムスク系香料は、香粧品に広く用いられる魅惑的な香気をもち、動物種を越えてフェロモン様の生理作用をもつという興味深い性質がある。さらに、これまでに数多く合成されてきたムスク系香料は、構造が全く異なるにも関わらず同じ質の匂いを呈することが知られており、これは香料業界における長年の謎とされてきた。しかし、ムスク系香料がどのような嗅覚受容体レパートリーで認識されるのかは全く解明されていなかった。今回我々は、マウスとヒトを含む5種の霊長類のムスコ（天然ムスク香料の代表的なもの）に対する受容体同定に成功し、これらの受容体の匂い応答特異性を解析することで、ムスク系香料の受容体レベルでの感知メカニズムを明らかにした。さらに、ムスクの香りを感知する際には、キーとなるただ一つの嗅覚受容体の働きが重要であることを明らかにした。本研究の成果は、ムスクの香りの感知メカニズムを解明すると共に、ムスコ受容体の匂い応答特性を評価系とする新たなムスク香料開発に繋がると期待される。

B-93 霊長類におけるエピゲノム進化の解明

一柳健司, 佐々木裕之, 福田溪 (九州大・生医研) 所内対応者: 今井啓雄

我々は霊長類におけるゲノム進化とエピゲノム進化の関係を解明するため、霊長類各種の組織における DNA メチル化の比較解析を行ってきた (Fukuda et al. 2013, J. Human Genet.58:446-454)。GAIN より提供いただいたニホンザル精子サンプルについて、全ゲノムレベルで DNA メチル化状態を決定し、既に公表されているヒトとチンパンジーのデータを含め、精子メチル化状態の 3 種比較を行った。興味深いことに、大きな低メチル化領域 (数十 kb 以上) がヒト特異的に多数出現していることが分かった。さらに、これらの低メチル化領域はヒト特異的なコピー数多型や染色体再編成の領域に頻出していた。すなわち、精子での DNA メチル化レベルの変化がゲノム安定性の変化に寄与していると考えられる (論文投稿中)。

また、GAIN よりテナガザル精巣サンプルを頂き、RNA を抽出した。過年度に霊長研から提供いただいたチンパンジー精巣や別に入手したヒト精巣サンプルと合わせて、精巣内小分子 RNA (主に piRNA) の種間比較解析を進めている (未発表)。

(3) 一般グループ研究

C-1 霊長類由来 ex vivo 培養系を用いた消化管細胞機能の解析

岩槻健, 高橋信之, 大木淳子, 熊木峻佑 (東農大), 佐藤幸治 (自然科学), 栗飯原永太郎 (シンシナシティ大)

所内対応者: 今井啓雄

本研究の目的は、これまでに報告例がないサル腸管からオルガノイドを作製し、消化管上皮細胞の機能解析のツールとして使用する事である。

当該年度では、霊長類研究所にてアカゲザルより腸管 (十二指腸、回腸、盲腸、大腸) を採取し、オルガノイドの作製を試みた。安楽死後、腸管を取り出し内容物を数回 PBS にて洗浄後、抗生物質入りの PBS にて洗浄。腸管上皮細胞取得の際は、筋層が厚いため上皮の部分のみ眼下ハサミで切り出し、EDTA によりクリプトと絨毛部分を分離した後、メッシュに通しクリプトのみを分画した。大腸だけは、上皮が剥がれずオルガノイド作製を断念した。次に分画されたクリプトをマトリゲルに分散させた後、Wnt アゴニストを含む培地にて培養したところ、球体状に成長する細胞群を得た。これら球体状の細胞群を免疫染色した結果、セロトニン陽性細胞を確認する事ができ、オルガノイド培養が成功したと確認した。今後は、得られたサルオルガノイドを用いて、腸管機能を解析する予定である。

C-2 ヒトを含む霊長類における創傷治癒機序の進化

松本晶子 (琉球大・観光), 高橋健造, 内海大介 (琉球大・医学研究科) 所内対応者: 鈴木樹理

本研究の目的は、皮膚の厚さが霊長類の創傷治癒速度を決定する要因であるかどうかを調べるものである。共同利用及び GAIN の協力により、2015 年 11 月に、大型類人猿 3 種 (チンパンジー、ゴリラ、オランウータン) の皮膚組織試料の提供を受けた。試料はホルマリン液と RNAlater 保存溶液を用い保存した。試料は、琉球大学医学部皮膚科学教室で切り出し、皮膚の厚さ (表皮と真皮を合わせた厚さ) を測定した。

結果、ゴリラ、チンパンジー、オランウータンの順に皮膚が厚いことが明らかとなった (図 1)。本年度は試料数が各 1 個であったため、皮膚の厚さの種差を検討するには至らなかった。今後も継続して試料の収集し、創傷治癒に及ぼす皮膚の厚さの影響を検討していく。

C-3 マカクにおける繁殖季節性と運動のおよぼす骨格加齢への影響

松尾光一 (慶應大・医), 山海直 (医薬基盤・健康・栄養研究所・霊長類医科学研究センター), Suchinda Malaivijitnond (Chulalongkorn 大), 森川誠 (慶應大・医) 所内対応者: 濱田穰

季節繁殖性をもつ霊長類 (ニホンザル) において、骨密度が季節に応じて変化するという仮説を検証した。鼓膜から蝸牛へ音を伝える「耳小骨」と、体重を支え運動を担う長管骨である「大腿骨」の 2 種類のさらし骨を解析対象とし、平成 26 年度からのサンプルに加えて新たな骨を解析し、これまでの解析個体総数をオス 75 個体、メス 71 個体とした。これらの個体から得た骨の骨量や骨密度を、マイクロ CT を用いて定量した。ツチ骨とキヌタ骨はそれぞれ全体を 10 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ の解像度で、大腿骨は遠位端を 120 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ の解像度で撮影した。性別や死亡時の年齢、日付を基に解析を行ったところ、オスでは季節によって骨密度に変化が見られた。そこで、オスの生体ニホンザル 14 頭を用いて、橈骨遠位端の骨密度を年 2 回、繁殖期と非繁殖期に pQCT を用いて定量し、このうち、13 頭の血中テストステロン濃度を測定した。その結果、骨密度の変化量が季節によって増減する時期が見出され、血中テストステロン濃度も骨密度変化と類似したパターンを示した。さらに、血中 25-(OH) ビタミン D3 濃度変化との関係も解析した。これらのデータは骨が、いわば加齢と若返りを毎年繰り返していることを示唆する。

C-4 金華山島のサル・個体数の変動と 6 群間の生態社会学的比較

伊沢紘生 (宮城のサル調査会), 杉浦秀樹 (京大・野生動物研究センター), 藤田志歩 (鹿児島大・共同獣医・行動生理・生態学研究室), 川添達朗 (京都大・理学・人類進化論), 宇野壮春, 関健太郎, 三木清雅 (東北野生動物保護管理センター)

所内対応者: 古市剛史

申請時の本研究の目的は 6 つである。①個体数の一斉調査は申請通り 2 回、秋と冬に実施した。結果は秋が 277 頭、冬が 281 頭だった。冬の方がわずかに多いのは、秋の調査時には華やかな交尾期を反映して、群間をうろつき回る群れ外オスのカウントが完璧でなかったことにもよる。②群れごとのアカンボウの出産数と死亡 (消失) 数は、春の調査を上記 2 回

の一斉調査に加えて実施し、出生数は6群で計8頭、死亡(消失)数は1頭のみだった。③家系図と④食物リスト作成は、群れごとの担当者が随時実施し、現在まで確実に継続されている。⑤6群間の比較生態・社会学的調査は、修士の学生によるオニグルミ割り採食行動の性・年齢別比較研究をサポートした。⑥サル学を志す若手への可能な研究テーマの整理は、宮城のサル調査会の機関紙『宮城県のニホンザル』第29号を刊行し、昨年度の第28号と併せ、群れごとに整理した。

以上述べた、申請時の研究目的を着実にクリアしていく過程で、金華山ニホンザル個体群で大きな変化が起こった。南部に生息する群れ(D群)が分裂したのである。D群は、戦後1群であったものが1964年前後に分裂して誕生して以来、半世紀を超えて群れのまとまりを維持し続け、遊動域もほとんど変えることがなかった。しかも、分裂した小さい方の群れ(D2群)は、これまでの分裂によく見られていた群れの遊動域を二分するという形でなく、北東部に新たな遊動域を構えた。それだけでなくこの地域は、3群(B2群、C1群、C2群)の主要遊動域であり、残りの2群(A群、B1群)も、主稜を西から東へ越えて進出してくる地域であり、島で最も群れが込み合っている地域である。おそらく、そこに新たな遊動域を構えたということは、上記5群に大きな影響を与えるものと考えられ、どのような生態学的・社会学的な影響を与えるのかは、本研究課題からしてもきわめて重要である。

C-5 アカゲザル iPS 細胞樹立および免疫細胞への分化

金子新(京都大・iPS研)、塩田達雄、中山英美、田谷かほる(大阪大・微研)、入口翔一(京都大・iPS研)

所内対応者：明里宏文

本研究では、iPS細胞から各種免疫細胞への分化誘導方法を確立し、そしてそれらの免疫細胞の自家移植によりヒト免疫不全症候群などによる破綻した免疫機構を再構築することを、免疫学的にヒトに近縁な霊長類を用いて検討することを目的とした研究である。

本年度は、免疫細胞誘導のためのソースとして3頭のアカゲザル末梢血から単核球を分離・活性化しiPS細胞樹立を試みた。前年までの条件検討により、いずれのアカゲザルからも複数のiPS細胞が得られた。樹立したiPS細胞は、未分化マーカーにより未分化性を、奇形腫形成により多分化能を確認した。次に、種々のサイトカインを用いてCD34陽性細胞への分化誘導を行い、フローサイトメトリーで表面マーカーの確認を行った。また、分化誘導で得られたCD34陽性細胞を用いてコロニーアッセイを行い、血球分化能も確認した。さらにはCD34陽性細胞とOP9DL1細胞との共培養によりT細胞分化能を有することが確認できたiPS細胞株について、自家移植を目的に、再生T細胞の拡大培養実験と遺伝子マーカー実験を行うなど、移植実験の準備を進めた。

(4) 随時募集研究

D-1 サルの脅威刺激検出に関する研究

川合伸幸(名古屋大・院・情報科学) 所内対応者：香田啓貴

ヒトがヘビやクモに対して恐怖を感じるのには生得的なものか経験によるのか長年議論が続けられてきた。しかし今では現在、ヘビ恐怖の生得性は認識されているが、クモ恐怖の生得的議論がわかる。ヒト乳児ではクモ様の図形に敏感に反応するようだが、成人では再現できない。そこで前年度に引き続いて、課題のデータを収集することができなかった2頭を対象に、毒グモがいない地域に生息するニホンザルが視覚探索課題においてクモをほかの動物よりもすばやく検出するかを検討した。すでに基本的な視覚探索の訓練と、ヘビとコアラを用いた実験はH26年度に実施していたので、クモとコアラの刺激を用いた視覚探索課題を実施した。この課題で安定して反応できるようになったため(90%以上の正答率が3日以上連続)、反応時間を測定したところ、前年度の1頭と同様に、2頭ともヘビを見つけるまでの時間のほうが早くかったが、クモとコアラでは、クモを見つける時間とコアラを見つける時間で有意な差はみられなかった。この結果は、前年度の1個体と一致していた。これらの結果はサルはクモに対する優先的な視覚情報処理を行わないことを示唆する。ただし、視覚探索課題には手続き上の問題が指摘しているため、サルがヘビに対する注意バイアスがあることを示すには、ノイズのなかからほかの動物よりも効率的にヘビを検出できることを示すなどの必要がある。

D-2 ニホンザルを対象とした高解像度 CNV スクリーニング解析

尾崎紀夫、Aleksic Branko、久島周(名古屋大・院・医学系・研究科精神医学) 所内対応者：今井啓雄

自閉スペクトラム症、統合失調症の発症に強く関与する稀なゲノムコピー数変異(copy number variant; CNV)が多数同定されている。本研究では、妥当性の高い精神疾患の霊長類モデルを見つけ出すことを企図して、ニホンザルを対象とした全ゲノムCNV解析を実施した。具体的には、ニホンザル379頭を対象にarray CGH(comparative genomic hybridization)を用いて高解像度の解析を実施し、多数のCNVを同定した。その1つに、10番染色体のADORA2A遺伝子(adenosine A2a receptor)を含む598kbの重複を見出した。ADORA2Aを含む重複は、発達障害や統合失調症との関連が示唆されていることから、本個体の行動観察を実施したが、現在までのところ、行動上の異常は見出していない。

D-3 脂質を標的としたサル免疫システムの解明

杉田昌彦、森田大輔(京都大・ウイルス研) 所内対応者：鈴木樹理

本研究グループは、アカゲザルにおいて、サル免疫不全ウイルス由来のリボペプチドを特異的に認識するT細胞の存在を明らかにし、その分子機構の解明を目指した研究を展開してきた。まずリボペプチド特異的T細胞株(2N5.1)の抗原認識を阻害する2種のモノクローナル抗体を作出しその生化学的解析を進めた結果、その認識抗原がアカゲザルMHCクラス1分子であることを見出した。そこでアカゲザル末梢血単核球よりMHCクラス1遺伝子群を単離し、それぞれをトランスフェクトした細胞を用いてT細胞株の応答を検証したところ、アカゲザルMamu-B*098アリルを発現した細胞